BEEINFLUSSUNG DER HYPERAKUTEN XENOGENEN ABSTOSSUNGSREAKTION EX–VIVO PERFUNDIERTER SCHWEINE- UND SCHAFNIEREN BEI HUNDEN DURCH AKTIV UND PASSIV ERZEUGTES ENHANCEMENT

Claus Hammer

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546011_0080

AUS DEM INSTITUT FÜR CHIRURGISCHE FORSCHUNG
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. W. Brendel) an der Chirurgischen Klinik
(Direktor: Prof. Dr. Dr. R. Zenker) der Universität München

BEEINFLUSSUNG DER HYPERAKUTEN XENOGENEN ABSTOSSUNGSREAKTION EX-VIVO PERFUNDIERTER SCHWEINE- UND SCHAFNIEREN BEI HUNDEN DURCH AKTIV UND PASSIV ERZEUGTES ENHANCEMENT.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Claus Hammer
aus
Kirchheim-Teck

München 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Dr.h.c. W. Brendel
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. W. Stich
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4.7.1972

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

Meinen Eltern

INHALT

		Seite
A.	EINLEITUNG	1
B.	METHODIK	4
1.	Tiermaterial, Haltung und Futter	4
1.1.	Vorbereitung der Empfängerhunde	4
1.2.	Gewinnung und Vorbereitung der Spendernieren	5
1.3.	Herstellung des Antigens	5
1.4.	Herstellung von Immunseren	6
1.5.	Versuchsanordnung	6
1.6.	Bestimmungsmethoden	10
C.	ERGEBNISSE	14
2.	Untersuchungen physiologischer Parameter	14
2.1.	Überlebenszeit, RBF und Urinproduktion	14
2.2.	Arterieller Blutdruck	15
2.3.	Gewichtszunahme der Nieren	15
2.4.	Elektrolyte und Osmolarität	19
2.5.	Protein in Serum und Urin	20
2.6.	Enzyme in Serum und Urin	26
2.7.	AVD-O_2 im Blut xenogener Nieren	30
2.8.	Sauerstoffverbrauch xenogener Nieren	30
2.9.	Hämaturie	33
3.	Ergebnisse morphologischer Untersuchungen	34
3.1.	Thrombozyten	34
3.2.	Leukozyten	35
3.3.	Histologische Untersuchungen	37
4.	Ergebnisse immunologischer Untersuchungen	40
4.1.	Präformierte Antikörper	40
4.2.	Antikörperanstieg nach Vorbehandlung	40

Seite

4.3. Abnahme von Antikörpern bei Hämoperfusion 43

4.4. Komplementverhalten bei Hämoperfusion 46

4.5. Histämie und Histurie 47

4.6. Vasoaktiver Effekt 50

D. DISKUSSION 51

a. Antikörper und deren Funktion bei der HXAR 51

b. Rolle des Komplements bei der HXAR 58

c. Verhalten der Thrombozyten bei der HXAR 60

d. Verhalten der Leuko- und Lymphozyten 60

e. Vasoaktive Prinzipien bei der HXAR 61

f. Eiweißfreisetzung aus Nieren bei der HXAR 61

g. Enzyme im Laufe der HXAR 63

h. Nierendurchblutung und O_2-Verbrauch bei der HXAR 64

i. Enhancement und seine Wirkung auf die HXAR 69

E. ZUSAMMENFASSUNG 78

F. LITERATURVERZEICHNIS 79

A. EINLEITUNG

Die schnellen Fortschritte, die in den letzten zehn Jahren auf dem Gebiet der Organtransplantation, insbesondere der Nierentransplantation gemacht wurden, finden ihren Ausdruck auch im akuten Mangel der Spenderorgane. Ethische und rechtliche Fragen machen die Entnahme von Organen bei freiwilligen Spendern und bei Verstorbenen zum Problem.

Erleichterung in der Versorgung von Transplantationszentren mit Transplantaten brachten fortschrittliche Einrichtungen wie Eurotransplant und Scandia-Trans, die bei Bedarf, durch Komputer HL-A typisierte Nierenallotransplantate, sofern vorhanden, verteilen. Ein großer Zeitverlust, verbunden mit langer Ischämie und der Schwierigkeit der Konservierung, können damit nicht verhindert werden. Schon seit 65 Jahren versuchen Ärzte, erkrankte Organe in Patienten durch Transplantate nicht menschlicher Herkunft zu ersetzen. Dabei griffen sie auf Organe entfernt verwandter, discordanter Tierarten (49, 91, 104) und eng verwandter oder concordanter Tierarten zurück (107, 108, 118, 123).

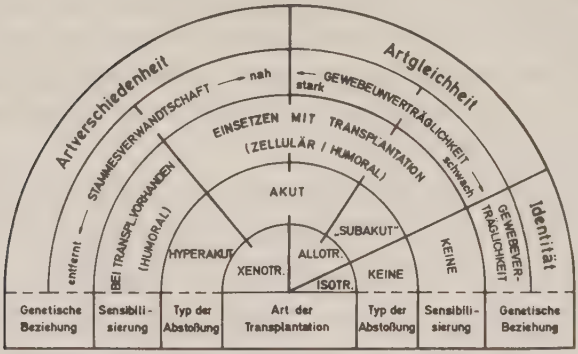
Bis heute konnte die Schranke genetischer Disparität bei discordanten Tierarten nicht überwunden werden (11, 36, 99). Bei xenogenen Nierentransplantaten scheint die Art und die Heftigkeit der Abstoßung ebenso wie der Grad der histologischen Veränderungen direkt proportional der genetischen Disparität beider Spezies zu sein (100, 112). Die Organe sind in der Regel nach spätestens 24 - 48 Stunden irreversibel zerstört. Als Ursache dieser hyperakuten Abstoßung werden heute zirkulierende, präformierte Antikörper, die auch Komplement verbrauchen angenommen.

Bei Transplantationen zwischen eng verwandten Tierarten gleicht die Reaktion jener Art der Abstoßung, die bei Allotransplantaten beobachtet wird (62).

Im Transplantationssystem von Spezies mit geringer Disparität erregten besonders die Erfolge im System Schimpanse - Mensch die Aufmerksamkeit (107, 108). Da der Schimpanse im Augenblick eine Tierart ist, die mit die höchste Aussterberate hat, dürften diese seltenen Primaten den Mangel an Organspendern zumindest in naher Zukunft nicht ausgleichen.

Es lag nahe, neue Methoden der Immunsuppression, die im allogenen System wirksam sind, auf Xenotransplantate zu übertragen. Neben Antilymphozytenglobulin, das sich nur bei Xenotransplantaten eng verwandter Tierarten bewährt hat (61), ist

Transplantatabstoßung in Abhängigkeit vom genetischen Spender - Empfänger - Verhältnis



Land W. Der Chirurg 42, 172 - 178 (1971)

nur noch das Phänomen des Enhancements in der Verlängerung der Überlebenszeit xenogener Transplantate wirksam. Der Ausdruck "Immunologisches Enhancement" wurde in der Tumorimmunologie geprägt, und auf einen Effekt übertragen, der in der Lage ist, die Abstoßungsreaktion von Allo- und Xenotransplantaten abzuschwächen. Verschiedene Theorien, die diesen Mechanismus erklären sollten wurden aufgestellt.

Enhancing Antikörper könnten den "efferenten" Schenkel des Immunsystems unterdrücken, indem sie mit den Antigendeterminanten der Zellen reagieren und diese blockieren. Eine "afferente" Inhibition wäre durch eine Antigen-Antikörperreaktion an der immunkompetenten Zelle zu erklären, wobei diese Antigen-Antikörperkomplexe die Zelle hindern, eine weitere Antigendeterminante zu besetzen. Ein "zentraler" Mechanismus wird auf eine Art "feed back" zurückgeführt. Dabei sollen von außen zugeführte Antikörper die Antikörperproduktion des Empfängers in den lymphoiden Zellen hemmen (2, 54).

Sollten diese oder andere neue Therapieversuche es möglich machen, die Abstoßung xenogener Organe zu verhindern, wären logistische, ethische und rechtliche Probleme wesentlich vereinfacht.

In den nachfolgend beschriebenen Untersuchungen wurde die Möglichkeit geprüft,

ob Enhancement auch bei xenogener Transplantation von Schweine- und Schafnieren auf Hunde auslösbar ist und zu einer Verlängerung der Überlebenszeit der übertragenen Organe führt.

B. METHODIK

1. Tiermaterial, Haltung und Futter

Die vorliegenden ex-vivo-Nierenperfusionen wurden an 45 Bastardhunden beiderlei Geschlechts mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 12 - 20 kg durchgeführt. Die im Kollektiv gehaltenen Hunde erhielten Wasser und Fleisch-Reisnahrung ad libitum. Zwei Tage vor dem Versuch kamen die Tiere in Einzelboxen.
Die zur Perfusion verwandten Nieren wurden frisch getöteten Schweinen und Schafen am Schlachthof München entnommen. Schweine und Schafe erhielten 24 Stunden vor der Schlachtung kein Futter mehr. Die letzte Wasseraufnahme konnte nicht sicher festgestellt werden.

1.1. Vorbereitung der Empfängerhunde

Hunde wurden ohne Prämedikation mit Nembutal [+] (25 mg/kg i. v.) narkotisiert und anschließend intubiert. Die Tiere atmeten ohne Hilfe. Nach Freilegung wurden beide Aa. und Vv. femorales mit einer Präparierschere in Querrichtung eröffnet und mit Polyäthylenschläuchen maximalen Kalibers kanüliert. Für die Dauer der Nierenperfusion wurde die Blutgerinnung mit Heparin [++] (3 mg/kg i. v.) gehemmt. Die Katheter blieben bis zum Versuchsbeginn mit 0,1 % Heparin-Kochsalzlösung gefüllt. Das Blut wurde über den arteriellen Katheter der einen Seite zu der extracorporalen, xenogenen Niere geleitet. Der venöse Efflux gelangte über den venösen Katheter zum Hund zurück. Zwischen Hund und Niere waren die Katheter durch 3-Wegehähne, die zur Blutentnahme dienten, unterbrochen. Die Substitution der Versuchstiere bei länger dauernden Versuchen erfolgte über den venösen Katheter der anderen Seite. Am arteriellen Katheter wurde der Blutdruck mittels Statham-Element [o] gemessen und fortlaufend auf einem Hellige Direktschreiber registriert [oo]

+ Pentobarbital-Natrium Fa. C.H. Boehringer Sohn, Ingelheim (Rhein)

++ Heparin Novo, Novo Industrie GmbH, Mainz

o Physiol. Pressure Transducer, HATO REY, Puerto Rico

oo Multi Scriptor, Hellige Apparatebau München

1.2. Gewinnung und Vorbereitung der Spendernieren

1.2.1. Schweinenieren

Deutsche Hausschweine mit einem Körpergewicht von etwa 100 kg wurden am Schlachthof München durch elektrischen Strom betäubt und sofort durch einen Stich über dem Manubrium sterni in Richtung Arcus aortae und Vena cava superior entblutet. Fünf minütiges Brühen des Kadavers erhöhte die Kerntemperatur nicht. Das Schwein wurde eröffnet und die Därme einschließlich des Magens in der üblichen Weise entfernt. Je nach der Gefäßsituation wurde lateral der linken oder rechten Niere das Peritoneum gespalten und die Niere aus dem Fett gelöst. Der Gefäßpol und etwa 15 cm des Ureters wurden sorgfältig freipräpariert. Die warme Ischämiezeit betrug nie länger als 20 Minuten.

1.2.2. Schafnieren

Merinoschafe von etwa 50 kg wurden durch einen Schuß ins Gehirn getötet und über die A. carotis entblutet. Nach der Häutung konnte mit einem Mittelschnitt das Abdomen eröffnet werden. Die Nieren wurden in ähnlicher Weise entnommen wie beim Schwein. Die warme Ischämiezeit betrug durchschnittlich 20 Minuten. Alle Nierengefäße und der Ureter wurden mit möglichst großkalibrigen PVC-Kathetern kanüliert. In einer, mit 4°C kalter Kochsalzlösung gefüllten Perfusionskammer erfolgte die Leerperfusion der Nieren. Eine eingebaute Heizschlange erwärmte den Kammerinhalt für die Dauer des Versuches auf 37°C.

1.3. Herstellung des Antigens

Antigen aus Lebern von Schwein und Schaf wurden in gleicher Weise präpariert. Die Organentnahme geschah möglichst früh nach der Schlachtung. Perfusion mit eisgekühlter gepufferter physiol. Kochsalzlösung sollte die Lebern weitgehend von Erythrozyten befreien. Mit der Schere zerkleinerte Leberstückchen wurden durch ein feines Drahtnetz getrieben und in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator zusammen mit 9 Teilen Kochsalz weiter aufbereitet (21). Das Homogenat diente als Antigen und wurde vermischt mit einem Antibioticum (Colistin+) bis zum Gebrauch in entsprechenden Mengen bei -20°C eingefroren.

+ Chemie Grünenthal GmbH., Stolberg (Rh.)

Als lösliches Protein wurde der 100 000 g Überstand dieses Homogenates bezeichnet. Auf einen definierten Proteingehalt von 1 g% und mit einem Antibioticum versetzt wurde das lösliche Antigen in passenden Dosen bei -20°C aufbewahrt.

1.4. Herstellung von Immunseren

Über die Zeit von 6 Wochen bekamen 5 Hunde mit einem Gewicht von 20 - 25 kg, 3 mg lösliches Protein pro kg Körpergewicht i. v. injiziert. Durch eine Vena sectio wurden die Hunde 1 Woche nach der letzten Behandlung entblutet. Das Serum wurde gepoolt und bis zum Versuch bei - 20°C eingefroren. Vor dem Versuch wurde eine entsprechende Menge Serum bei 6 000 g zentrifugiert und anschließend 1 : 1 mit physiol. NaCl vermischt.

1.5. Versuchsanordnung (Tab. 1)

1.5.1. Schwein-Hund System

Gruppe 1: Kontrollgruppe I: Fünf unbehandelte Hunde hämoperfundierten im extracorporalen System Schweinenieren, die zuvor mit 200 ml physiol. Kochsalzlösung blutleer gespült worden waren.

Gruppe 2: Kontrollgruppe II: In einer gleichen Versuchsnaordnung perfundierten 5 unbehandelte Hunde Schweinenieren, die vorher durch 1000 ml Perfusionslösung[+] von Schweineblut befreit worden waren. Der Lösung wurden 1 ml Heparin (5000 I. E.) 500 mg Procain[++] und 4, 8 mval Bicarbonat-Puffer zugesetzt. Diese Art der Vorperfusion wurde in allen folgenden Versuchen übernommen.

Gruppe 3: Versuchsgruppe I; aktives Enhancement: 8 Hunde wurden nach folgendem Schema mit löslichem Leberantigen vorbehandelt: 1. Woche 3 x 0, 5 mg/kg, 2. Woche 3 x 1, 0 mg/kg, 3. Woche 3 x 1, 5 mg/kg, 4. Woche 3 x 2, 0 mg/kg, 5. Woche 3 x 2, 5 mg/kg, 6. Woche 3 x 3, 0 mg/kg. Eine Woche nach der letzten Injektion wurden die Hunde in den Perfusionsversuch genommen.

+ Fa. Dr. E. Fresenius KG, Bad Homburg

++ Novocain, Farbwerke Höchst AG, Frankfurt (Main)

Gruppe 4: Versuchsgruppe II. Den Hunden der Gruppe 3 wurde weitere 6 Wochen 3 mg lösliches Leberantigen 3 x wöchentlich injiziert. Eine Woche später wurde erneut eine Schweineniere an die Hunde angeschlossen.

Gruppe 5: Versuchsgruppe III; passives Enhancement: 6 unbehandelten Hunden wurden 30 Minuten vor Anschluß an eine Schweineniere 1000 ml eines 1:1 verdünnten Immunserums (1.4.) infundiert.

Gruppe 6: Versuchsgruppe IV: Einem Hund der Gruppe 5, der die erste Perfusion überlebte, wurde nach 6 Wochen erneut eine Schweineniere angeschlossen. In diesen 6 Wochen erfolgte keine Behandlung.

1.5.2. Schaf-Hund System (Tab. 2)

Gruppe 7: Kontrollgruppe III: 3 unbehandelte Hunde perfundierten Schafnieren entsprechend der Anordnung der Gruppe 1, VG I.

Gruppe 8: Kontrollgruppe IV: 3 unbehandelte Hunde perfundierten Schafnieren, die mit der modifizierten Perfusionslösung blutleer gespült worden waren, entsprechend der Gruppe 2, VG II.

Gruppe 9: Versuchsgruppe V; Immunisierung: 6 Hunde die über ein Jahr in 3wöchigen Abständen mit 1 ml Schafleberhomogenat, gemischt mit 1 ml komplettem Freund's Adjuvans+, immunisiert worden waren, wurden zur Hämoperfusion an Schafnieren angeschlossen. Die Schafnieren wurden gemäß der Gruppe 8 vorbehandelt.

Gruppe 10: Versuchsgruppe VI: Die Hunde der Gruppe 9 wurden 3 Wochen nach der Nierenperfusion entblutet und das Serum gepoolt. Ein unbehandelter Hund erhielt eine Infusion von 1000 ml 1:1 verdünntem Hyperimmunserum, 30 Minuten vor Hämoperfusion einer Schafniere (vergl. Gruppe 5). Nur ein Versuch dieser Art wurde durchgeführt.

+ Difco USA Vertrieb Otto Norwald, Hamburg

Tabelle 1

GRUPPE	VORBEHANDLUNG DER EMPFÄNGER	VORBEHANDLUNG DER SPENDERNIERE
System Schwein-Hund 1. 5. 1.		
Gruppe 1: Kontrollgruppe I	ø	Perfusion mit 200 ml physiol. NaCl
Gruppe 2: Kontrollgruppe II	ø	Perfusion mit 1000 ml modifizierter Perfusionslösung (Fresenius)
Gruppe 3: Versuchsgruppe I (aktives Enhancement)	3 x wöchentlich über 6 Wochen lösl. Leberantigen in ansteigenden Dosen von 0, 5 - 3, 0 mg/kg Körpergewicht i. v.	Perfusion mit 1000 ml modifizierter Perfusionslösung (Fresenius)
Gruppe 4: Versuchsgruppe II (2. Niere)	Tiere der Gruppe 3 erhielten weitere 6 Wochen 3 x wöchentlich 3, 0 mg lösl. Leberantigen pro kg Körpergewicht i. v.	Perfusion mit 1000 ml modifizierter Perfusionslösung (Fresenius)
Gruppe 5: Versuchsgruppe III (passives Enhancement)	500 ml Immunserum + 500 ml phys. NaCl i. v. 30 Minuten vor der ex-vivo Perfusion	Perfusion mit 1000 ml modifizierter Perfusionslösung (Fresenius)
Gruppe 6: Versuchsgruppe IV (2. Niere)	Tiere der Gruppe 5 wurden nach 6 Wochen zu einer weiteren Perfusion herangezogen. In der Zwischenzeit erfolgte keine Behandlung.	Perfusion mit 1000 ml modifizierter Perfusionslösung (Fresenius)

Versuchsanordnung xenogener Hämoperfusionen von Schweinenieren durch Hunde.

Tabelle 2

GRUPPE	VORBEHANDLUNG DER EMPFÄNGER	VORBEHANDLUNG DER SPENDERNIERE
System Schaf-Hund 1. 5. 2.		
Gruppe 7: Kontrollgruppe III	Ø	Perfusion mit 200 ml physiol. NaCl
Gruppe 8: Kontrollgruppe IV	Ø	Perfusion mit 1000 ml modifizierter Perfusionslösung (Fresenius)
Gruppe 9: Versuchsgruppe V (Immunisierung)	12 Monate in 3wöchigen Abständen i. m. + s. c. Injektion von 1 ml Schafleber Gesamthomogenat + 1 ml Freund's Adjuvans	Perfusion mit 1000 ml modifizierter Perfusionslösung (Fresenius)
Gruppe 10: Versuchsgruppe VI (passives Enhancement)	500 ml Immunserum + 500 ml physiol. NaCl i. v. 30 Minuten vor der ex-vivo Perfusion	Perfusion mit 1000 ml modifizierter Perfusionslösung (Fresenius)

Versuchsanordnung xenogener Hämoperfusionen von Schafnieren durch Hunde.

1.6. Bestimmungsmethoden

1.6.1. Messungen

Nierendurchblutung: In bestimmten Abständen wurde der venöse Efflux der xenogenen Niere pro Zeiteinheit, mittels eines Meßzylinders bestimmt.

Blutdruck: Der arterielle Druck wurde blutig mit einer Strain-Gauge, Modell Statham P 23 D, fortlaufend gemessen.

Urinproduktion: Urin der xenogenen Nieren wurde in kalibrierten Gefäßen aufgefangen und pro Zeiteinheit gemessen.

Gewichtszunahme: Die ex-vivo perfundierten Nieren wurden vor und nach dem Versuch gewogen.

Elektrolyte: Na^+ und K^+ wurden gaschromatographisch[+] bestimmt.

Osmolarität: Die Osmolarität wurde nach dem Prinzip der Gefrierpunktserniedrigung bestimmt.[++]

Enzyme: Die Bestimmung der Transaminasen GOT und GPT erfolgte mittels der Biochemica Test Combination[+++].

Protein: Der Eiweißgehalt von Serum und Urin wurde mit der Biuret-Methode bestimmt.

1.6.2. Morphologische Untersuchungen

Thrombozyten: Die Blutplättchen wurden im arteriellen und venösen Blut der xenogenen Nieren mit Ammoniumoxalat selektiv dargestellt und in der Thoma-Neubauer Kammer unter dem Phasenkontrastmikroskop gezählt (Methode nach Brecher et al. (7)).

\+ Gaschromatograph, Carl Zeiss

++ Halbmikro Osmometer, Knauer, Berlin

+++ Biochemica Test, Fa. Boehringer Mannheim

Leukozyten: Zählung erfolgte mit der Thoma-Neubauer-Kammer unter dem Lichtmikroskop.

Histologie: Jede abgestoßene Niere wurde nach dem Versuch zur histologischen Untersuchung in gepuffertem Formalin fixiert. Nach Paraffineinbettung wurden folgende Färbungen durchgeführt: Hämatoxilin-Eosin, Ladiwig-Färbung, Elastika van Gieson und PAS. Präparate die in Acrylat fixiert wurden, wurden nach Masso, Giemsa und Gomori gefärbt (109).

1.6.3. Immunologische Untersuchungen

Hämagglutinationstest: Präformierte und durch Immunisierung erzeugte Hämagglutinine sind in der Lage, Erythrozyten, gegen deren Membranantigene sie gerichtet sind, zu agglutinieren. Das zu untersuchende Serum wird bei 56°C, 30 Minuten inaktiviert. Eine progrediente Verdünnungsreihe wird hergestellt. Die Erythrozyten, die das Antigen darstellen, werden 3 x mit physiol. Kochsalslösung gewaschen und auf 5000 Zellen pro mm^3 verdünnt. Zu je 0,1 ml der Serumverdünnung wird 0,1 ml Erythrozytensuspension pipettiert. Nach einer Inkubation von 90 Minuten bei 37°C läßt man die Antigen-Antikörper Komplexe im Kühlschrank 30 Minuten reifen. Auf Objektträgern werden bei 10facher Vergrößerung die Verdünnungsreihen auf Agglutinate untersucht und die Titerstufen bestimmt (53).

Komplementbindungsreaktion: Die KBR wurde nach der Methode von Wassermann ausgeführt. Als Antigen diente lösliches Leberprotein und Nierenhomogenat (53, 64).

Komplementtitration (C'H-50): Bei der Bestimmung der Komplementaktivität macht man Gebrauch von der Fähigkeit des Komplements, sensibiliserte Erythrozyten zu hämolysieren.
Schaferythrozyten werden mit einem Ambozeptor (Anit-Schaferythrozytenmembran-Antikörper) sensibilisiert: 5 ml 3 x gewaschener Schaferythrozyten werden mit der 20fachen Menge Veronalpuffer verdünnt. 1 ml dieser Zellsuspension wird mit Aqua dest. auf 15 ml aufgefüllt und die Extinktion der Hämolyse bei 530 mμ in einer 1 cm Küvette gegen Wasser abgelesen. Die Berechnung der benötigten Menge dieser Schafzellsuspension erfolgt nach der Formel: $\frac{0,286}{\text{Extinktion}} \times$ gewünschte Menge hämol. System

Benötigt man z. B. 100 ml Suspension sensibilisierter Erythrozyten, fügt man der errechneten Schafzellsuspension 2, 5 ml Ambozeptorverdünnung (1:20 mit Veronal-Puffer) und 10 ml 0, 5 % Gelatine in Veronalpuffer hinzu. Diese Mischung wird mit Veronalpuffer auf 100 ml eingestellt. Nach 30minütigem Schütteln im 37°C Wasserbad, sind die Erythrozyten sensibilisiert und gebrauchsfertig. Im 4°C Kühlschrank sind sensibilisierte Schafzellen 1 Tag haltbar.

Serumverdünnung: 9 nummerierte Reagenzgläser werden in Eiswasser aufgestellt. Das Testserum wird 1:10 mit Veronalpuffer verdünnt. Nach folgendem Schema kann der C'H-50 Titer von 35 - 66, 5 Einheiten bestimmt werden.

Schema

Glas No.	Verdünnung	ml Serum 1:10	ml Puffer	ml EA 1:2
1	1:125,9	0,318	0,682	3,0
2	1:151,4	0,264	0,736	3,0
3	1:182,0	0,220	0,780	3,0
4	1:218,8	0,183	0,817	3,0
5	1:263,0	0,152	0,848	3,0
6	1:316,2	0,127	0,873	3,0
7	--------	------	1,000	3,0

In Röhrchen 8 und 9 werden 1, 9 ml der sensibilisierten Schafzellen mit 6, 5 ml Wasser hämolysiert.
Nun werden die sensibilisierten Erythrozyten (EA) 1:1 mit Veronalpuffer verdünnt und 3, 0 ml in Röhrchen 1 - 7 überpipettiert. Die Röhrchen werden wasserdicht verschlossen und bei 32°C eine Stunde im Wasserbad geschüttelt. Anschließend werden die nicht hämolysierten Erythrozyten bei 3000 U/min 5 Minuten abzentrifugiert.

Messung der Hämolyse: Röhrchen 7 dient als Leerwert, 8 und 9 geben den Wert der 50 % Hämolyse an. Die gemessenen Extinktionen der Röhrchen 1 - 6 werden mit dem Faktor x multipliziert.

$$\frac{\text{Extinktion Röhrchen } 8+9/2}{0,500} = x$$

Die weitere Berechnung erfolgt nach der Kroghschen Formel:

$$\log x = \log K + 1/n \times \log\left(\frac{y}{1-y}\right)$$

x = Serumverdünnung

y = Hämolysegrad

Auf Millimeterpapier wird auf die Ordinate die Extinktion als log (y/1-y) aufgetragen, auf der Abszisse der log der Verdünnung. Mindestens 4 Werte der 6 Röhrchen müssen auf einer Geraden liegen. Der Wert auf dem die Gerade log (y/1-y) = 0 schneidet, ist der log Wert der C'H-50 Einheiten.

Quantitative immunologische Bestimmung von Protein nach Mancini (74).
Diese Bestimmung beruht auf dem Prinzip, daß ein Antigen, das nach allen Seiten gleichmäßig diffundieren kann, in einem Medium, in dem ein spezifisches Antiserum gelöst ist, Präzipitatringe bildet. Das Ausmaß der Durchmesser dieser Ringe wird durch die Antigenmenge geprägt.
Mit einem monospezifischen Antiserum gegen die C'-3 Fraktion+ des Hundekomplements konnte auf diese Weise semiquantitativ der Gehalt an C'-3 (ß1a/ß1c) im Serumg bestimmt werden.
Antiseren gegen Serumproteine vom Schwein und Schaf erlauben die Bestimmung von xenogenen Proteinen im Empfängerblut und im venösen Efflux des Xenotransplantates.

+ Hergestellt im Institut für Bluttransfusionsdienst, Amsterdam
Dir. Prof. Dr. Van Loghem.

C. ERGEBNISSE

2. Untersuchungen physiologischer Parameter

2.1. Die Überlebenszeit der ex-vivo hämoperfundierten xenogenen Schweinenieren wurde während des Versuchsablaufes durch quantitative Messungen des renalen Blutflusses RBF und der Urinproduktion bestimmt.

2.1.1. RBF und Urinproduktion der xenogenen Schweinenieren

Ein Unterschreiten des RBF von 0,05 ml/g Niere pro Minute war meist gleichbedeutend mit einem Sistieren der Urinproduktion und wurde als zeitliche Begrenzung der Nierenperfusion gewertet. In Tabelle 3 sind die Volumina des venösen Blutrückflusses der xenogenen perfundierten Nieren vom Schwein in ml/g Niere pro Minute aufgetragen. Nieren der Gruppe 1 hatten, sofern nach dem Öffnen des Empfängerkreislaufes, einen RBF von 0,46 ml/g x min. Eine mäßige Urinproduktion kam nur in einzelnen Nieren in Gang. In Gruppe 2 war der RBF anfangs nur unwesentlich höher als in Gruppe 1. Die Durchströmungszeit von 180 Minuten war jedoch um das 12fache verlängert. Die Urinproduktion begann nach 15 Minuten, erreichte nach 90 Minuten Höchstwerte um mit dem Sistieren des RBF zu enden (Tab. 4). Nieren der Gruppe 3, die von vorbehandelten Hunden hämoperfundiert wurden wiesen die höchsten Werte der Anfangsdurchblutung auf, sanken jedoch schnell auf Werte ab, die im Grenzbereich der minimalen Durchblutung lagen. In dieser Gruppe kam es allerdings erst nach 5 Stunden zum vollständigen Sistieren des venösen Rückflusses. Die Nieren dieser Gruppe produzierten trotz des niederen RBF 70 ml Urin (Tab. 4). Wurde diesen Hunden nach weiteren 6 Wochen Behandlung mit Leberantigen erneut eine Schweineniere an den Kreislauf angeschlossen, so kam es zu einer Abstoßung innerhalb von 20 - 25 Minuten. Der RBF dieser Gruppe lag von Anfang an sehr nieder. Vier der acht Nieren produzierten Urin in erheblicher Menge.
Die Übertragung von Immunseren vor Beginn der ex-vivo-Perfusion, Gruppe 5, brachte eine signifikante Verlängerung des RBF. Bis zum finalen Abfall nach 12 Stunden bewegten sich die Werte der Nierendurchblutung um 0,35 ml/g x min. Diese Nieren produzierten die größte Menge Urin im System Schwein-Hund. Nach 6 be-

handlungsfreien Wochen wurde einem der Hunde erneut eine Schweineniere angeschlossen. Obwohl diese Niere in vitro mit der Perfusionslösung von Fresenius modifiziert nach Largiader vorperfundiert wurde, zeigte die Überlebenszeit enge Übereinstimmung mit Werten der Gruppe 1. Urin wurde von dieser Niere nicht ausgeschieden.

2.1.2. RBF und Urinproduktion der xenogenen Schafnieren

Die Überlebenszeit der xenogenen perfundierten Schafnieren wurde nach den gleichen Gesichtspunkten bestimmt wie im System Schwein-Hund (Tab. 5) Die in vivo Perfusionszeit der Gruppe 7: Kontrollgruppe III dieses Systems, lag nur unwesentlich höher, als in Gruppe 1. Urin wurde nicht ausgeschieden (Tab. 6). Der RBF der Gruppe 8 unterschritt nach 4 Stunden 0,1 ml pro g pro Minute. Mit Schafleberhomogenat immunisierte Hunde, Gruppe 9, perfundierten Schafnieren durchschnittlich 6 Stunden. Die Urinmenge der Gruppen 8 und 9 unterscheiden sich unwesentlich (Tab. 6).
In einem einzigen Übertragungsversuch, Gruppe 10, wurden wie im System Schwein-Hund, die höchsten Werte der Nierendurchblutung gemessen und die längsten Überlebenszeiten ex-vivo hämoperfundierter Schafnieren erzielt. Die weitaus höchste Urinproduktion wurde in diesem Einzelversuch gemessen (Tab. 6).

2.2. Der arterielle Blutdruck (blutig gemessen) bewegte sich während der ex-vivo Perfusion bei allen Hunden im Bereich von 125 ± 28 mmHg.

2.3. Gewichtszunahmen der xenogenen Nieren im Laufe der Hämoperfusion sind in Tabelle 7 aufgetragen. Gewichtszunahme in g und prozentuale Zunahmen der entsprechenden Gruppen beider Systeme, Schwein-Hund und Schaf-Hund wurden vergleichend gegenübergestellt.

Tabelle 3

Gruppe	1 (n = 6) KG I	2 (n = 6) KG II	3 (n = 8) VG I	4 (n = 8) VG II	5 (n = 2) VG III	6 (n = 1) VG IV
Zeit (min)						
1	0,46 ± 0,06	0,58 ± 0,30	0,64 ± 0,15	0,21 ± 0,08	0,54	0,45
5	0,36 ± 0,08	0,61 ± 0,30	----------	0,27 ± 0,10	0,25	0,43
15	0,09 ± 0,04	0,53 ± 0,30	0,14 ± 0,07	0,14 ± 0,09	0,25	0,37
30	----------	0,43 ± 0,26	0,07 ± 0,02	0,10 ± 0,05	0,20	0,25
60		0,11 ± 0,03	0,07 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,34	0,06
90		0,08 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,70	----
120		0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,02	----------	0,40	
180		0,04 ± 0,01	0,10 ± 0,04		0,40	
240		----------	0,10 ± 0,02		0,28	
300			0,06 ± 0,02		0,38	
360			0,04 ± 0,01		0,33	
420			----------		0,33	
540					0,28	
600					0,42	
720					0,37	
780					0,15	

Verhalten des RBF von ex-vivo hämoperfundierten Schweinenieren nach unterschiedlicher in-vitro Vorperfusion bei unbehandelten und Schweineleberantigen-vorbehandelten Hunden, ausgedrückt in ml/g Niere x min.

Tabelle 4

Gruppe	1 (n = 6) KG I	2 (n = 6) KG II	3 (n = 8) VG I	4 (n = 8) VG II	5 (n = 2) VG III
Zeit (min)					
5	3,5±0,5	ø	ø	ø	ø
15	6,0±3,0	0,4±0,4	ø	ø	ø
30	2,7±0,7	2,7±2,2	ø	7,5±5,6	9,1±5,6
60	--------	8,4±7,2	5,0±0,1	41,3±37,6	17,5±4,5
90		9,5±8,4	4,7±1,4	30,9±28,4	
120		6,4±5,8	7,4±1,7	11,8±10,8	26,2±16,6
150		5,9±3,0	7,8±1,7	14,5±0,0	
180		3,5±1,5	10,1±1,2	----------	11,5±0,0
210		1,9±1,5	12,2±2,7		
240		--------	12,2±2,5		18,5±1,9
300			5,9±1,3		11,3±5,3
360			5,6±1,5		8,9±2,9
420			4,2±1,5		9,8±3,2
540			--------		10,9
600					5,1
720					5,1
Gesamt-Produktion	7,8±7,2	18,8±7,3	65,8±19,3	83,3±51,3	122,0±36,0

Urinproduktion von ex-vivo-hämoperfundierten Schweinenieren nach unterschiedlicher in-vitro Vorperfusion, bei unbehandelten und Schweineleberantigen-vorbehandelten Hunden, ausgedrückt in ml/100 g Niere x 30 Minuten, sowie die Gesamtmenge des produzierten Urins in ml.

Tabelle 5

Gruppe	7 (n = 3) KG III	8 (n = 3) KG IV	9 (n = 7) VG V	10 (n = 1) VG VI
Zeit (min)				
1	0,17 ± 0,05	0,60 ± 0,07	0,80 ± 0,20	1,40
5	0,40 ± 0,33	0,30 ± 0,03	0,45 ± 0,13	0,53
15	0,23 ± 0,20	0,22 ± 0,11	0,45 ± 0,13	0,31
30	0,22 ± 0,20	0,20 ± 0,16	0,44 ± 0,22	0,49
60	----------	0,23 ± 0,21	0,44 ± 0,22	0,89
9090		0,23 ± 0,21	0,36 ± 0,18	0,80
120		0,20 ± 0,16	0,31 ± 0,18	0,75
180		0,18 ± 0,15	0,26 ± 0,14	0,69
240		0,10 ± 0,10	0,15 ± 0,07	1,00
300		----------	0,18 ± 0,13	1,40
360			0,10 ± 0,06	1,11
420			----------	0,21
480				0,10

Verhalten des RBF von ex-vivo-hämoperfundierten Schafnieren nach unterschiedlicher in-vitro Vorperfusion bei unbehandelten und Schafleberantigen-vorbehandelten Hunden, ausgedrückt in ml/g Niere x min. Darunter die entsprechende Urinproduktion in ml/100 g Niere x 30 Minuten.

Tabelle 6

Gruppe	7 (n = 3)	8 (n = 3)	9 (n = 7)	10 (n = 1)
Zeit (min)				
30	----------	0,6 ± 0,6	----------	---------
60		1,6 ± 0,3	1,5 ± 0,3	3,0
120		3,5 ± 3,1	4,2 ± 0,8	13,0
180		2,7 ± 1,9	4,1 ± 1,3	14,0
240		6,3 ± 5,0	3,8 ± 0,7	13,1
300		--------	3,1 ± 0,3	11,3
360			2,3 ± 0,8	8,3
480			----------	5,4
Gesamtproduktion	----------	27,5 ± 19,9	30,0 ± 8,1	430,0

Tabelle 7

System Schwein-Hund			System Schaf-Hund		
Gruppe	Gewichts-Zunahme	%-Zunahme	Gruppe	Gewichts-Zunahme	%-Zunahme
1	56 ± 14	37	7	39 ± 10	41
2	136 ± 24	90	8	90 ± 15	100
3	175 ± 35	116	9	106 ± 58	117
4	100 ± 21	75			
5	215 ± 15	140	10	70 ± 100	78
6	90 ± 00	50			

Gewichtszunahme von ex-vivo-hämoperfundierten Schweine- und Schafnieren nach unterschiedlicher in-vitro Vorperfusion bei unbehandelten und bei Schweine- bzw. Schafleberantigen-vorbehandelten Hunden, ausgedrückt in g und %. Die entsprechenden Gruppen der beiden Systeme sind gegenübergestellt.

Es besteht eine gute Korrelation der % Gewichtszunahme zwischen den entsprechenden Gruppen der beiden untersuchten Systeme. Auffallend ist eine Abhängigkeit der Nierengewichte im abgestoßenen Zustand zur Dauer der Hämoperfusion. Nur kurze Zeit perfundierte Nieren der Gruppen 1, 4, 6 und 7 weisen eine geringe, die lange Zeit überlebenden Nieren der Gruppen 2, 3, 8 und 9 dagegen eine starke Zunahme ihres Gewichtes auf. Eine Diskrepanz besteht zwischen den Nieren der Gruppe 5 (passives Enhancement System Schwein-Hund) und der Gruppe 10 (passives Enhancement System Schaf-Hund). Die Gewichtszunahme der Schafniere ist auffallend gering, während die Schweinenieren entsprechend der längsten Überlebenszeit, die höchsten Endgewichte erreichen.

2.4.1. Elektrolyte und Osmolarität im System Schwein-Hund

Das Verhalten der Elektrolyte Na^+ und K^+ sowie der Osmolarität im Serum (venöser Efflux) und Urin der xenogen-hämoperfundierten Schweinenieren ist in Tabelle 8 wiedergegeben. Die Serum Na^+-Werte aller 3 untersuchten Gruppen liegen während der ersten halben Stunde im Bereich der Norm. Spätere Werte, insbesondere die der Gruppe 3, sind erhöht. Die Urin Na^+-Werte bewegen sich bei 120 mval im unteren

Bereich der Norm und liegen unter den Serumwerten. Bereits kurz nach Beginn der Perfusion treten in allen Gruppen erhöhte K^+-Werte auf, wobei Konzentrationen von mehr als 10 mval gemessen werden. Bei Spenderantigen-vorbehandelten Hunden fallen die erhöhten K^+-Werte nach 3stündiger Perfusion wieder ab. Die Urinkonzentrationen der Elektrolyte der gleichen Gruppen zeigen ein identisches Verhalten, liegen aber unter den Serumwerten (Tab. 8).
Die Osmolarität von Serum und Urin schwankt zwischen 300 und 350 mosmol. Der Urin/Plasma Quotient der Osmolarität ist einheitlich 1,0 (Tab. 9).

2.4.2. Elektrolyte und Osmolarität im System Schaf–Hund

Im venösen Efflux der ex-vivo perfundierten Schafnieren bleiben Na^+-Konzentration und Osmolarität von Serum und Urin im Bereich der Norm. Der U/P-Quotient schwankt nur leicht um 1,0 (Tab. 11). K^+ steigt im Verlauf der Perfusion in allen Gruppen an. Die höchste Konzentration tritt in der Gruppe 7, nach 30 Minuten, zum Zeitpunkt des Durchblutungsstops auf. In den Gruppen 8 und 9 fallen die Werte nach 60 Minuten wieder ab. Die Urinwerte von K^+ liegen gewöhnlich über den Serumkonzentrationen (Tab. 12).

2.5.1. Proteingehalt von Serum und Urin im System Schwein-Hund

Im venösen Efflux der Schweinenieren fällt der Proteingehalt aller 3 Gruppen anfänglich geringfügig ab, erreicht aber nach 30 Minuten die Ausgangswerte wieder. Im Urin steigt der Gehalt an Protein stetig an. Höchstwerte der Proteinurie werden zur Zeit des Sistierens der Nierendurchblutung gemessen (Tab. 10).

2.5.2. Proteingehalt von Serum und Urin im System Schaf-Hund

Der Eiweißgehalt des Serums fällt von anfänglich normalen Werten auf unphysiologisch tiefe Konzentrationen. Im Urin der Gruppe 8 werden erhebliche Mengen Eiweiß ausgeschieden. Der U/P-Protein steigt von 1,2 auf nahezu 2,0 an. In der Gruppe 9 sind der Proteingehalt von Serum und Urin fast identisch (Tab. 14).

Tabelle 8

Elektrolyt-Konzentrationen in:

		Serum	+	Urin		Urin/Plasma Quctient	
Gruppe	1	2	3	2	3	2	3
Zeit (min)							
1	148,0	143,1	162,2	-------	------	------	----------
	±9,2	±2,4	±17,2				
30	146,2	155,0	146,0	-------	------	-----	----------
	±12,7	±11,5	±0,0				
60	------	175,5	166,5	125,0	122,8	0,71	0,73
		±45,0	±11,5				
120		148,9	171,0	129,6	118,2	0,87	0,69
		± 6,4	±10,4				
180		------	166,0	-------	140,3	------	0,84
			± 2,0		±13,9		
240			179,6		128,0		0,71
			+ 6,0		+ 2,0		
300			178,5		123,0		0,69
			±11,9		± 5,4		
360			172,6		126,3		0,73
			±11,6		± 4,3		
420			172,0		139,5		0,81
			± 2,0		± 9,5		

Verhalten von Na^+ im postrenalen Serum und im Urin xenogen perfundierter Schweinenieren (mval/l).

Tabelle 8

Elektrolyt-Konzentrationen in:

						Urin/Plasma Quotient	
	Serum		+	Urin			
Gruppe	1	2	3	2	3	2	3
Zeit (min)							
1	4,3 ± 0,1	4,1 ± 0,3	7,1 ± 1,0	-----	-----	-----	-----
30	11,1 ± 4,3	11,5 ± 0,9	9,4 ± 0,4	-----	-----	-----	-----
60	-----	11,9 ± 1,7	12,5 ± 0,9	11,9	11,6	1,0	0,9
120		9,3 ± 1,8	8,8 ± 3,1	10,9	11,4	1,2	1,3
180		-----	5,7 ± 1,1	9,9	9,0		1,6
240			6,1 ± 0,7	-----	7,3		1,2
300			5,8 ± 0,6		6,8		1,2
360			5,3 ± 0,8		6,3		1,2
420			5,8 ± 0,9		6,8		1,2

Verhalten von K^+ im postrenalen Serum und im Urin xenogen perfundierter Schweinenieren (mval/l).

Tabelle 9

Osmolarität in:	Serum			Urin		Urin/Plasma Quotient	
Gruppe	1	2	3	2	3	2	3
Zeit (min)							
1	299±1,1	315±1,5	312±5,5	-------	-------	--------	--------
30	301±5,0	314±2,5	312±5,8	-------	-------	--------	--------
60	--------	321±3,4	314+5,3	321±0,5	354±3,8	1,0	1,2
120		321±6,5	319±7,3	339±9,5	326±2,8	1,0	1,0
180		319±2,0	316±9,0	328±1,0	311±4,9	1,0	1,0
240		--------	313±6,9	-------	321±5,0	------	1,0
300			309±4,9		320±4,0		1,0
360			310±4,4		312±5,1		1,0
420			311±4,3		311±6,8		1,0

Verhalten der Osmolarität im postrenalen Serum und im Urin xenogen perfundierter Schweinenieren (mosmol/l).

Tabelle 10

Protein in:	Serum			Urin		Urin/Plasma Quotient	
Gruppe	1	2	3	2	3	2	3
Zeit (min)							
1	5,0±0,8	4,0±0,0	5,5±0,1	-------	------	-------	---------
15	3,3±0,6	3,0±0,3	4,8±0,4	-------	------	-------	---------
30	4,5±0,6	3,3±0,1	5,6±0,5	-------	------	-------	---------
60	--------	4,6±0,6	4,8±0,6	6,2±1,3	4,6±0,9	1,3	1,0
120		5,2±0,9	4,7±0,4	6,7±0,5	5,4±0,7	1,3	1,0
180		5,7±0,8	5,1±0,6	7,3±1,8	5,6±0,5	1,3	1,1
240		-------	5,9±0,8	--------	5,4±0,3	------	0,9
300			4,8±0,8		7,2±0,6		1,5
360			4,2±0,2		6,3±0,1		1,5
420			5,1±0,8		6,5±0,2		1,3

Verhalten von Protein im postrenalen Serum und im Urin xenogen perfundierter Schweinenieren (g%).

Tabelle 11

Elektrolyt-Konzentration in:						Urin/Plasma Quotient	
	Serum		+	Urin			
Gruppe	7	8	9	8	9	8	9
Zeit (min)							
0	139 ± 3,0	-------	149 ± 9,2	-------	-------	----	----
1	139 ± 0,4	131 ± 4,2	146 ± 4,4	-------	-------	----	----
15	138 ± 2,6	124 ± 5,8	142 ± 0,6	-------	-------	----	----
30	134 ± 4,1	144 ± 1,7	144 ± 7,3	-------	-------	----	----
60	--------	140 ± 0,0	145 ± 5,4	149 ± 8,5	133 ± 1,0	1,1	0,9
120		147 ± 3,7	153 ± 8,6	155 ± 9,9	145 ± 3,9	1,0	0,9
180		152 ± 5,0	143 ± 4,0	156 ± 7,5	137 ± 3,7	1,0	1,0
240		145 ± 9,8	96 ± 4,7	132 ± 2,6	-------	0,9	----
300		--------	143 ± 2,9	--------	137 ± 2,1	----	1,0
360			157 ± 9,5		-------		----

Verhalten von Na^+ im postrenalen Serum und im Urin von Schafnieren, nach unterschiedlicher Vorperfusion bei Ex-vivo-hämoperfusion durch unbehandelte und mit Schafleberhomogenat vorbehandelte Hunde, ausgedrückt in mval/l.

Tabelle 12

	Serum		+	Urin		Urin/Plasma Quotient	
Gruppe	7	8	9	8	9	8	9
Zeit(min)							
0	6,3 ± 1,6	---------	5,1 ± 0,1	--------	-------	----	----
1	6,6 ± 1,5	4,4 ± 0,3	4,5 ± 0,7	--------	-------	----	----
15	6,8 ± 1,9	5,1 ± 0,8	6,3 ± 0,9	--------	-------	----	----
30	9,2 ± 2,4	6,1 ± 1,4	5,7 ± 0,4	--------	-------	----	----
60	--------	3,5 ± 2,3	6,7 ± 1,0	7,3 ± 1,9	4,6 ± 0,1	2,0	0,7
120		3,6 ± 0,1	6,2 ± 0,9	8,2 ± 3,5	6,5 ± 1,9	2,3	1,0
180		4,4 ± 0,9	4,4 ± 0,5	6,8 ± 2,4	6,2 ± 1,2	1,6	1,4
240		3,6 ± 0,8	5,4 ± 0,8	6,7 ± 2,9	5,1 ± 0,3	1,9	1,0
300		--------	5,1 ± 0,7	--------	5,4 ± 0,3	----	1,0
360			3,6 ± 0,1		-------		----

Verhalten von K^+ im postrenalen Serum und im Urin von Schafnieren, nach unterschiedlicher Vorperfusion bei Ex-vivo-hämoperfusion durch unbehandelte und mit Schafleberhomogenat vorbehandelte Hunde, ausgedrückt in mval/l.

Tabelle 13

Osmolarität in:						Urin/Plasma Quotient	
		Serum	+	Urin			
Gruppe Zeit (min)	7	8	9	8	9	8	9
1	319±1,0	295±12,3	304±5,7	---------	--------	----	----
15	312±3,0	---------	311±17,0	---------	--------	----	----
30	307±3,0	310± 5,0	327±21,5	---------	--------	----	----
60	--------	303±13,0	341±22,9	363±11,9	341±18,0	1,2	1,0
120		306±31,5	327± 8,1	396±15,5	356±41,7	1,3	1,1
180		304±24,0	328±10,2	355± 2,0	340±22,7	1,2	1,0
240		302±17,5	310± 0,3	320± 9,5	318± 8,0	1,0	1,0
300		---------	314± 3,8	--------	314± 7,7	----	1,9

Verhalten der Osmolarität im postrenalen Serum und im Urin xenogen perfundierter Schafnieren (mosmol/l).

Tabelle 14

Protein in		Serum	+	Urin		U/P Quotient	
Gruppe Zeit (min)	7	8	9	8	9	8	9
0	6,5±0,0	---------	5,8±0,5	--------	--------	----	----
1	10,8±0,3	8,6±1,7	5,0±0,3	--------	--------	----	----
15	5,7±0,7	---------	4,7±0,5	--------	--------	----	----
30	5,0±0,2	7,2±1,8	5,3±0,3	--------	--------	----	----
60	--------	6,7±1,5	5,7±0,4	8,0±1,4	3,9±0,4	1,2	0,7
120		6,0±1,3	5,1±0,6	8,6±1,8	4,3±0,9	1,4	0,8
180		4,3±1,6	5,4±0,7	7,6±1,6	5,0±0,7	1,8	0,9
240		3,6±1,8	5,6±0,8	6,8±2,5	4,3±0,7	1,9	0,8
300		3,8±2,1	6,9±1,3	--------	3,1±1,3	----	0,5

Verhalten von Protein im postrenalen Serum und im Urin xenogen perfundierter Schafnieren (g%).

2.6.1. Enzymwerte in Serum und Urin im System Schwein-Hund

Um einen Anhaltspunkt für den Grad und die Geschwindigkeit der Zerstörung des speziesfremden Organes nach Anschluß an den Empfängerkreislauf zu erhalten, wurden im Efflux der hämoperfundierten Nieren, sowie im produzierten Urin, die Transaminasen GOT und GPT, sowie die LDH untersucht (Tab. 15 - 20).
Aus den Tabellen 15 - 17 ist ersichtlich, daß während der kurzen xenogenen ex-vivo Perfusion in der Gruppe 1, kein Anstieg der untersuchten Enzyme stattfindet. In Gruppe 2, in der eine längere Hämoperfusion aufrechterhalten werden konnte, war ab 60 Minuten ein extremer Anstieg von GOT und LDH meßbar, der bis zum Schluß des Versuches stetig zunahm. Bei den mit Spenderantigen vorbehandelten Empfängerhunden der Gruppe 3, steigt GOT und LDH im Serum bereits nach 30 Minuten signifikant an, um gegen Ende der Perfusion die höchsten Werte zu erreichen. Die von Anfang an extremen Werte im Urin schwanken nur schwach. Betrachtet man den Trend der Urin-Plasma Quotienten, so fällt in allen Gruppen die Tendenz von gleichbleibenden Urin- und langsam ansteigenden Serumkonzentrationen auf. Die Werte der GPT verhalten sich grundsätzlich wie die der beiden anderen Enzyme, erreichen aber nur niedere Konzentrationen.

2.6.2. Enzymwerte in Serum und Urin im System Schaf-Hund

Im System Schaf-Hund verhalten sich Transaminasen und LDH ähnlich wie im System Schwein-Hund. Es fällt auf, daß in diesem System relativ niedere GOT-Werte gemessen werden. Der Urin-Plasma Quotient aller Gruppen ist mit dem, entsprechender Schweineversuche, vergleichbar. Es sind auch hier die von Anfang an hohen Urinkonzentrationen und die langsam ansteigenden Serumwerte für den Verlauf der U/P Quotienten verantwortlich (Tab. 18 - 20).

Tabelle 15

GOT in:		Serum	+	Urin		Urin/Plasma Quotient	
Gruppe	1	2	3	2	3	2	3
Zeit (min)							
1	29±2	35±2	48±3	------	------	----	----
15	22±0	32±6	48±7	------	------	----	----
30	34±1	37±4	73±22	------	------	----	----
60	-----	69±6	140±31	112±22	527±121	1,6	3,8
120		321±12	280±68	302±72	584±156	0,9	2,1
180		380±15	504±99	274±63	625±215	0,7	1,2
240		-------	667±97	------	1090±430	----	1,6
300			514±26		1086±123		2,1
360			728±168		1086±173		1,5
420			526±112		488±238		0,9

Verhalten von GOT im postrenalen Serum und im Urin von Schweinenieren, nach unterschiedlicher Vorperfusion bei ex-vivo-Hämoperfusion durch unbehandelte und mit Schweineleberantigen vorbehandelten Hunden, ausgedrückt in mU/ml Serum oder Urin.

Tabelle 16

GPT in:		Serum	+	Urin		Urin/Plasma Quotient	
Gruppe	1	2	3	2	3	2	3
Zeit (min)							
1	30±8	20±2	12±4	------	------	-----	----
15	11±0	30±7	14±6	------	------	-----	----
30	11±1	24±13	12±3	------	------	-----	----
60	------	19± 7	18±5	11± 7	31±12	0,6	1,8
120		21± 9	28±10	33±14	42±20	1,6	1,5
180		33±17	36± 9	26±12	34± 5	0,8	0,9
240		------	48± 9	------	40± 9	-----	0,8
300			40± 7		43± 8		1,1
360			50± 9		36± 9		0,7
420			57± 5		------		----

Verhalten von GPT im postrenalen Serum und im Urin von xenogen perfundierten Schweinenieren, ausgedrückt in mU/ml.

Tabelle 17

LDH in:

		Serum	+	Urin		Urin/Plasma Quotient	
Gruppe	1	2	3	2	3	2	2
Zeit (min)							
1	184 ± 67	-------	164 ± 37	------	------	----	----
15	159 ± 16	111 ± 16	163 ± 25	------	------	----	----
30	158 ± 15	183 ± 24	212 ± 18	------	------	----	----
60	-------	230 ± 8	314 ± 79	382 ± 67	1671 ± 511	1,6	5,3
120		600 ± 19	624 ± 102	1193 ± 470	1687 ± 234	2,0	2,7
180		691 ± 41	752 ± 113	1146 ± 520	1872 ± 162	1,7	2,4
240		-------	788 ± 149	------	2259 ± 203	----	2,9
300			1031 ± 103		2197 ± 240		2,1
360			923 ± 132		2286 ± 412		2,5
420			732 ± 239		1599 ± 717		2,2

Verhalten von LDH im postrenalen Serum und im Urin von xenogen perfundierten Schweinenieren, ausgedrückt in mU/ml.

Tabelle 18

GOT in:

		Serum	+	Urin		Urin/Plasma Quotient	
Gruppe	7	8	9	8	9	8	9
Zeit (min)							
0	12 ± 0	5 ± 2	18 ± 5	------	------	----	----
1	9 ± 0	7 ± 3	20 ± 2	------	------	----	----
15	14 ± 2	11 ± 5	23 ± 0	------	------	----	----
30	16 ± 2	11 ± 4	25 ± 4	------	------	----	----
60	------	12 ± 9	29 ± 8	67 ± 53	42 ± 16	5,8	1,5
120		34 ± 27	48 ± 16	78 ± 59	67 ± 26	2,3	1,4
180		116 ± 105	85 ± 28	50 ± 25	58 ± 15	0,4	0,9
240		166 ± 162	124 ± 52	163 ± 102	41 ± 13	1,0	0,3
300		------	115 ± 38	------	55 ± 18	----	0,5
360			243 ± 42		51 ± 20		0,2

Verhalten von GOT im postrenalen Serum und Urin von xenogen perfundierten Schafnieren, ausgedrückt in mU/ml.

Tabelle 19

GPT in:		Serum	+	Urin		Urin/Plasma Quotient	
Gruppe	7	8	9	8	9	8	9
Zeit (min)							
0	16 ± 1	------	18 ± 5	------	------	----	----
1	19 ± 7	16 ± 11	24 ± 4	------	------	----	----
15	24 ± 6	11 ± 4	31 ± 14	------	------	----	----
30	27 ± 9	17 ± 9	30 ± 13	------	------	----	----
60	------	20 ± 9	55 ± 23	30 ±	18 ±	1,5	3,3
120		26 ± 15	45 ± 27	70 ± 62	60 ± 31	2,6	1,3
180		81 ± 51	59 ± 23	97 ± 88	103 ± 39	1,2	1,8
240		102 ± 73	75 ± 27	184 ± 172	100 ± 40	1,8	1,3
300		------	68 ± 39	------	57 ± 43	----	0,7
360			104 ± 78		104 ± 97		1,0

Verhalten von GPT im postrenalen Serum und im Urin von xenogen perfundierten Schafnieren, ausgedrückt in mU/ml.

Tabelle 20

LDH in:		Serum	+	Urin		Urin/Plasma Quotient	
Gruppe	7	8	9	8	9	8	9
Zeit (min)							
1	24 ± 9	21 ± 2	66 ± 10	-------	------	----	----
15	73 ± 31	93 ± 23	93 ± 23	-------	------	----	----
30	69 ± 14	76 ± 57	136 ± 33	-------	------	----	----
60	------	64 ± 46	249 ± 75	234 ± 105	102 ± 65	3,7	1,4
120		172 ± 144	514 ± 156	488 ± 286	607 ± 419	2,6	1,2
180		490 ± 432	693 ± 263	-------	519 ± 260	----	0,8
240		725 ± 605	984 ± 467	962 ± 851	606 ± 214	1,3	0,6
300		------	966 ± 440	-------	400 ± 231	----	0,4
360			842 ± 343		339 ± 281		0,4

Verhalten von LDH im postrenalen Serum und im Urin von xenogen perfundierten Schafnieren, ausgedrückt in mU/ml.

2.7.1. $AVDO_2$ im Blut xenogen hämoperfundierter Schweine und Schafnieren

In den Gruppen 1, 3, 5, 7 und 8 wurde im Verlauf der Hämoperfusion die arteriovenöse Differenz der Sauerstoffsättigung im Blut der xenogenen Nieren bestimmt (Tabelle 21). Wie aus der Tabelle hervorgeht, steigen die Werte innerhalb der ersten 15 Minuten in allen Gruppen gleich stark an, um sich nach einer Perfusionszeit von über 60 Minuten auf einem extrem hohen Niveau einzupendeln.

Tabelle 21

Gruppe Zeit (min)	1	3	5	7	8
1	15,0±1,9	13,0±2,0	6,7±2,6	13,3±4,3	26,0±0,0
15	40,0±5,5	30,7±4,8	40,3±9,3	35,3±4,8	39,0±0,0
30	40,0±4,0	41,5±8,4	49,7±8,9	35,0±1,7	35,3±1,8
60	50,0±8,0	36,0±6,8	51,0±9,0	--------	37,0±2,3
90	---------	48,5±5,7	--------		37,3±5,6
120		46,3±7,6			27,3±9,4
150		41,3±7,4			29,3±5,6
180		36,7±7,4			32,0±3,5
210		37,5±7,0			35,3±4,3
240		32,7±3,1			33,6±6,2
270		35,0±8,2			33,5±16,5
300		35,2±4,8			32,5±28,5
330		38,0±6,2			34,0±16,2
360		37,5±5,5			37,5±25,5

Verhalten der O_2-Differenz zwischen A. renalis und V. renalis von Schweine- und Schafnieren während xenogener Perfusion durch unbehandelte und mit Leberantigen vorbehandelte Hunde (%) (n = 3).

2.8.1. Sauerstoffverbrauch xenogen hämoperfundierter Nieren, ausgedrückt in ml O_2/100 g Niere/min.

Der Sauerstoffverbrauch einer Niere wird berechnet nach der Formel:

$$x = \frac{AVD\text{-}O_2}{100} \times \frac{Hb\ g\%}{100} \times ml/min/100\ g\ Niere \times 1,34$$

der Nierendurchblutung. Aus den Faktoren, die an der Formel beteiligt sind, resultiert der schnelle Abfall des Sauerstoffverbrauchs in den Kontrollgruppen und der höhere O_2-Verbrauch in den Versuchsgruppen. Besonders die Schafnieren zeigen über lange Zeit der Perfusion einen Sauerstoffverbrauch, der etwa ein Drittel des physiologischen Wertes ausmacht (Tab. 22).

Tabelle 22

Gruppe	1	2	3	7	8	9
Zeit (min)						
1	2,2±1,2	2,4	2,4±0,6	2,4±0,2	0,4	2,5±1,4
3	3,3±0,4	---	-------	--------	---	--------
5	3,8±1,0	---	-------	--------	---	--------
10	4,5±0,6	2,7	-------	--------	---	--------
15	2,8±0,9	---	1,7±0,7	0,6±0,2	---	2,2±1,1
30	0,3±0,2	2,1	0,5±0,3	0,5±0,3	2,4	2,4±1,1
60	--------	1,5	0,5±0,2	--------	2,4	2,7±2,0
90		1,2	0,5±0,1		2,1	2,5±1,8
120		1,1	0,6±0,2		2,4	2,2±1,5
150		1,0	0,6±0,2		2,1	1,7±1,2
180		0,3	0,5±0,2		2,1	1,8±1,2
210		---	0,5±0,1		2,0	2,0±1,4
240			0,5±0,3		0,7	0,8±0,6
270			0,3±0,1		0,6	0,9±0,7
300			0,2±0,0		---	1,0±0,9
330			0,1±0,0			1,0±1,0

Sauerstoffverbrauch xenogen perfundierter Schweine- und Schafnieren ausgedrückt in ml/min/100 g Niere.

2.8.2. Hämolyse (mg % Hb) in Serum und Urin xenogen perfundierter Nieren von Schwein und Schaf durch vorbehandelte Hunde

Im Verlauf der Perfusion kommt zum Ausdruck, daß abhängig von der Dauer der Hämoperfusion es zu einer zunehmenden Hämolyse im Blut und gleichzeitig zu einer Ausscheidung von Hämoglobin im Urin kommt. In den Hauptversuchsgruppen wurde das Hämoglobin bestimmt und in Tabelle 23 wiedergegeben. Dabei ist zu beobachten, daß der Hb-Gehalt des Urins jeweils leicht unter der Konzentration im Serum liegt und, daß beide Gruppen gut übereinstimmen. Hunde, die gegen Schafleber immunisiert wurden, weisen im Serum und im Urin höhere Werte auf als Hunde, die nur mit geringen Mengen xenogenen Schweineproteins vorbehandelt wurden.

Tabelle 23

Gruppe	3		9	
Zeit (min)	Serum	Urin	Serum	Urin
1	14,5±9,5	----------	48,0±10,8	----------
30	42,6±11,3	26,2±0,0	86,7±13,5	----------
60	61,5±17,7	54,1±2,1	114,3± 8,6	----------
90	75,7±12,0	52,0±1,0	132,3±12,3	70,5±52,4
120	97,5± 6,5	59,3±5,4	143,8±13,4	62,0± 8,0
150	112,3± 1,7	----------	130,7±14,5	102,0± 9,2
180	103,6± 4,4	----------	127,8±22,7	114,6±10,4
210	127,3±12,3	----------	133,3±21,8	119,0±10,1
240	98,1±17,3	78,5±2,1	137,5±17,2	122,5±16,8
270	101,5±21,3	90,6±7,8	134,7±20,6	120,7±28,3
300	99,5± 7,6	85,1±6,7	138,7±18,9	130,7± 0,0
330	111,0±29,1	99,4±3,6	142,0±21,9	----------
360	123,0±36,0	112,0±0,0	144,0±28,0	
390	125,5±44,5	107,4±13,3	----------	

Verhalten von freiem Hämoglobin in mg% in Serum und Urin von Schweine- und Schafnieren im Verlauf der xenogenen ex-vivo Perfusion durch Antigen-vorbehandelte Hunde.

2.9.1. Hämaturie bei xenogenen Nieren

In den Versuchsgruppen 3 und 9, in denen xenogene Nieren, über längere Zeit vergleichbare Urinmengen produzierten, wurden die Erythrozyten im Urin gezählt. Die Ergebnisse gibt Tabelle 24 wieder. In Gruppe 3, in der die Empfänger mit niederen Dosen von löslichem Leberprotein vorbehandelt wurden, werden Zahlen von 100×10^6 Erys/mm^3 kaum überschritten. Lediglich gegen Ende des Versuches steigen die Zahlen mäßig an. In Gruppe 9, in der die Empfänger gegen das xenogene Organ immunisiert worden waren, werden 200×10^6 Erys/mm^3 im Urin schon nach 2 Stunden angetroffen. Ein stetiger Anstieg erreicht kurz vor dem Zeitpunkt der Abstoßung Höchstwerte, die 2×10^9 übersteigen und damit 50 % des Hämatokrits ausmachen.

Tabelle 24

Gruppe	3	9
Zeit (min)		
30	26,8 ± 8,8	----------
60	31,0 ± 9,0	48,9 ± 21,0
90	60,0 ± 17,3	173,6 ± 64,6
120	100,0 ± 34,4	200,8 ± 68,3
150	50,0 ± 12,6	230,0 ± 80,7
180	94,0 ± 23,1	254,6 ± 61,3
210	92,0 ± 10,2	252,0 ± 61,6
240	114,0 ± 36,6	659,0 ± 297,0
270	101,6 ± 23,6	500,0 ± 177,8
300	107,2 ± 24,4	356,0 ± 84,8
330	125,8 ± 33,6	430,0 ± 155,0
360	180,0 ± 41,0	2800,0 ±

Anstieg der Erythrozytenzahlen im Urin xenogener Schweine- und Schafnieren, die durch Antigengaben vorbehandelt waren. Gemessen in $1 \times 10^6/mm^3$.

3. Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen

3.1.1. Verhalten der Thrombozyten im Blut von Hunden während der Hämoperfusion von Schweinenieren

Die Thrombozyten des arteriellen Blutes und des venösen Effluxes von hämoperfundierten Schweinenieren wurden in Gruppe 1, 2 und 3 in den ersten Stunden gezählt und sind in Tabelle 25 in % der AVD aufgetragen.
Ein extremer Abfall der Blutplättchenzahl setzt in allen untersuchten Gruppen, in den ersten Minuten nachdem die xenogene Niere an den Kreislauf des Hundes angeschlossen wurde, ein. In Gruppe 1, werden nach 5 Minuten fast alle Thrombozyten in der xenogenen Niere absorbiert. In Gruppe 2 sind nach 30 Minuten keine Plättchen im venösen Efflux der Nieren nachweisbar. Gruppe 3 zeigt dagegen nach 5 Minuten den höchsten Verlust an Thrombozyten, jedoch verlassen im weiteren Verlauf relativ hohe Zahlen von Thrombozyten wieder die Nieren.

Tabelle 25

Gruppe	1 (n = 3)	2 (n = 4)	3 (n = 4)
Zeit (min)			
1	74,7 ± 13,5	88,3 ± 4,4	71,6 ± 11,3
3	78,0 ± 9,2	----------	----------
5	100,0 ± 0,0	----------	93,3 ± 5,2
10	92,7 ± 3,7	----------	64,4 ± 18,4
15	100,0 ± 0,0	79,7 ± 9,8	75,2 ± 14,2
30	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	78,2 ± 12,6
60	----------	92,7 ± 11,3	62,7 ± 23,6
90		100,0 ± 0,0	55,7 ± 21,3

Verhalten von Thrombozyten im Blut xenogen perfundierter Schweinenieren. Die Absorption ist ausgedrückt in % der AVD-Thrombozyten.

3.1.2. Verteilung von Cr^{51}-markierten Thrombozyten in den Organen der Empfänger und den xenogenen Schweinenieren nach Hämoperfusion

In 3 Versuchen wurden Cr^{51}-markierte, autogene Thrombozyten in einen Empfänger

einer xenogenen Schweineniere injiziert und nach Abschluß des Versuches die Radioaktivität in verschiedenen Organen, einschließlich der Schweineniere gemessen (Abb. 2).

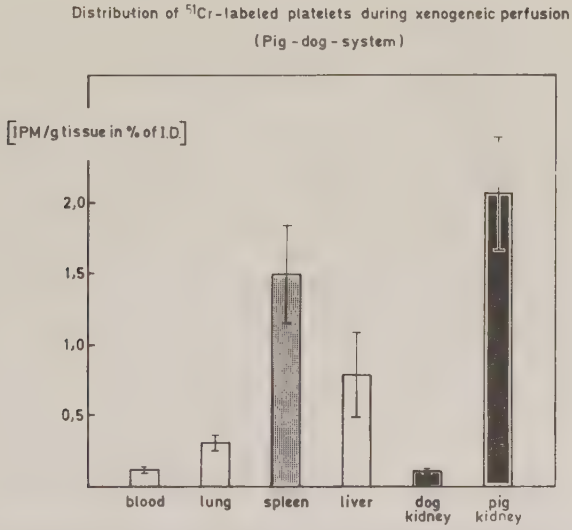


Abb. 2 Verteilung Cr^{51}-markierter Thrombozyten während xenogener Perfusion im System Schwein-Hund.

Abbildung 2 zeigt, daß ein überragender Teil der Radioaktivität der Thrombozyten in der xenogenen Niere verbleibt. Milz und Leber entziehen einen Großen Anteil des radioaktiven Cr^{51} der Thrombozyten, während in der eigenen Niere der Hunde, in der Lunge und im Blut nur geringe Aktivitäten gemessen werden.

3. 2.1. Verhalten der Leukozyten während der anfänglichen 90 Minuten der Hämoperfusion wird in Tabelle 26 dargestellt als % der AVD. In den Gruppen 1 - 4, wurden in je 3 Versuchen, die Leukozyten des venösen Effluxes gezählt. Nach Öffnen des Kreislaufes werden innerhalb der ersten Minute in allen Gruppen 50 % und mehr der Leukozyten in der xenogenen Niere festgehalten. In den Gruppen 1, 2 und 3 erholen sich die Leukozytenzahlen schnell wieder, um nach 15 Minuten konstant abzunehmen. Dabei nehmen die Leukozyten im venösen Blut der Kontrollnieren und der "second-set"

Nieren schneller ab, als in den Versuchen, in denen die Hunde mit löslichem Leberantigen vorbehandelt wurden.

Tabelle 26

Gruppe	1	2	3	4
Zeit (min)				
1	54,5±13,6	74,0±18,1	54,5±13,6	44,8±15,3
3	13,0± 4,7	11,0± 3,1	----------	---------
5	44,0±10,8	19,0± 4,8	25,7± 12,9	50,3±13,3
10	56.0± 8,3	---------	----------	67,6± 7,7
15	58,2± 8,3	73,0± 8,2	40,7± 9,4	82,0±14,2
20	81,0± 8,2	---------	----------	71,1±11,8
30	71,0± 2,0	73,0±13,8	56,2± 7,2	75,2± 7,0
45	----------	58,0±11,2	----------	73,7± 7,1
60		55,0± 9,2	65,0± 12,7	63,5±26,5
90		73,1±15,9	78,8± 6,4	59,0±15,5

Verhalten von Leukozyten während der ersten 90 Minuten einer ex-vivo Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte und mit löslichem Leberantigen vorbehandelten Hunden, ausgedrückt als % der AVD-Leukozyten.

3.2.2. Differentialblutbild des venösen Effluxes von xenogenen Schweinenieren der Gruppe 3, wurde zusätzlich ausgewertet. In Tabelle 27 kommt klar zum Ausdruck, daß besonders polymorphkernige Leukozyten in der Niere zurückgehalten werden, während die Lymphozyten nur geringen Schwankungen unterliegen. Die AVD-Lymphozyten bewegt sich um 30%.

Tabelle 27

Zeit (min	Polymorphkernige Leukozyten	Lymphozyten
1	66,6±12,4	22,8±11,3
15	91,2± 3,2	26,4±13,0
30	79,0±11,2	33,5±13,5
60	87,5± 4,0	13,0±13,0
90	90,0± 5,3	32,0±12,1
120	37,0±14,6	11,0± 6,6

Verhalten von polymorphkernigen Leukozyten und Lymphozyten von Leberantigen vorbehandelten vorbehandelten Hunden, beim Passieren xenogener Schweinenieren (% AVD-PML und % AVD-Lymphozyten).

3.3.1. Histologische Untersuchungen an Schweinenieren

Im histologischen Präparat lassen die mit Hundeblut perfundierten Schweinenieren der verschiedenen Gruppen keine typischen Unterschiede der aufgetretenen Schädigung erkennen. Alle Nieren zeigen entsprechend dem makroskopischen Bild, hochgradige Hyperämie aller Gefäße, sowie interstitielle Blutungen. Dabei nimmt die Hyperämie und die Stauung in der Rinde geringere Ausmaße an als im Mark. In kleineren Arterien und in den Arteriolen liegen in dilatierten Lumina, zentral Erythrozytenkonglutinate, am Rand, dem Endothel aufsitzend, segmentkernige Granulozysten. Auch in den intertubulären Kapillaren liegen stellenweise deutlich vermehrt polymorphkernige Granulozyten.

Am Tubulussystem sind starke Schädigungen zu beobachten, die auf Hypoxie zurückgeführt werden können. Herdförmig kommt es zu vollständiger Tubulusnekrose. An den Glomerula treten Schäden auf, die ebenfalls als Folge der Hypoxie betrachtet werden. Mesangium und Endothel sind meist nekrotisch. In der Mehrzahl der Glomerula sind Anhäufungen von Granulozyten, sowie pyknotische Zellkerne in den Glomerulumschlingen anzutreffen. Bei PAS-Färbung sieht man in einzelnen Glomerula, drahtschlingenähnliche Verbreiterungen der Basalmembran, die als Fibrin angesprochen werden können. Thrombozyten oder Aggregate von Thrombozyten konnten

nicht nachgewiesen werden (Abb. 3).

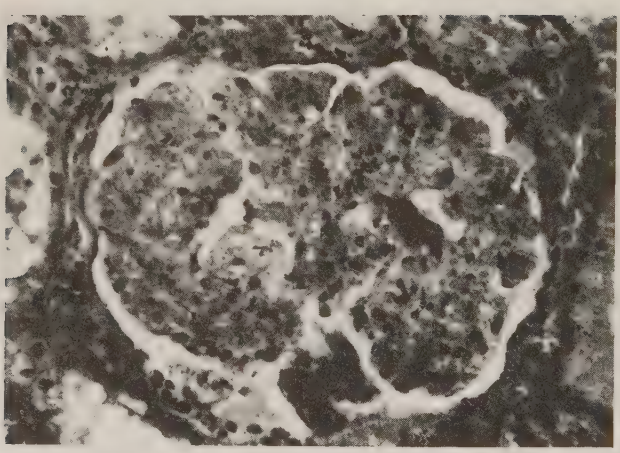


Abb. 3 Histologisches Präparat einer Schweineniere (Rinderbereich mit Glomerulum) nach 6stündiger Ex-vivo-Perfusion bei einem mit Leberantigen vorbehandelten Hund (Erläuterung siehe Text).

3.3.2. Histologische Untersuchungen an Schafnieren

Die histologische Untersuchung der hämoperfundierten Schafnieren durch unbehandelte oder mit Leberhomogenat vorbehandelte Hunde zeigt ähnliche Befunde wie Nieren des Systems Schwein-Hund. Auch hier sind keine grundsätzlichen Unterschiede der einzelnen Gruppen hervorzuheben. Es fällt auf, daß in beiden Systemen die Schwere der Schädigungen von der Dauer der Perfusion abhängen. Nieren der Kontrollgruppen weisen nur mittelgradige Veränderungen auf, die auf Hypoxie zurückzuführen sind. Große Gefäße sind noch vollkommen frei von Erythrozyten.

In den Nieren, die über 40 Minuten perfundiert wurden, treten allgemein akute Hyperämie und hochgradige Stauung, besonders im Bereich des Marks auf. In allen Gefäßen, besonders in den Arteriolen und in den Glomerulumkapillaren finden sich Erythrozytenkonglomerate, die Glomerulumschlingen sind dilatiert. Neben den

Erythrozytenkonglomeraten in den Glomerulumschlingen sind bei HE-Färbung homogene, rote Zylinderquerschnitte zu beobachten, die sich auch in der Ladewig-Färbung rot anfärben. In den meisten Glomeruli sind Anhäufungen von segmentkernigen Leukozyten anzutreffen. Die Struktur der Glomeruli ist häufig nicht nachzuweisen. Mesangiumzellen und Endothelzellen fehlen in den meisten Schlingen. Die Veränderungen entsprechen Schäden, wie sie bei einer massiven Hämaturie, mit Erythrozyten in den Bowmann'schen Kapselräumen und zahlreichen Erythrozytenzylindern in den Tubuluslumina, entstehen. Die Tubuli sind dilatiert und weisen Veränderungen auf, wie sie nach Hypoxie entstehen. Es kommt zu Epithelabflachung und Abstoßung von Hauptstückkuppen. In den intertubulären Kapillaren sind polymorphkernige Leukozyten deutlich vermehrt (Abb. 4).

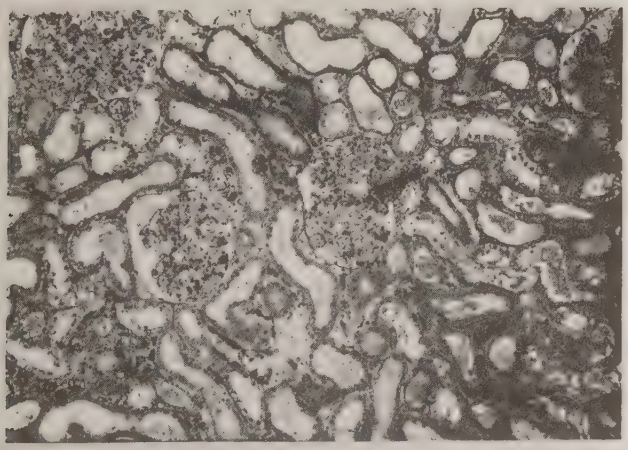


Abb. 4 Histologisches Präparat einer Schafniere (Rindenbereich mit Glomerula) nach 5stündiger Ex-vivo-Perfusion bei einem mit Leberhomogenat vorbehandelten Hund (Erläuterung siehe Text 3. 3. 2.).

4. Ergebnisse immunologischer Untersuchungen

4.1. Präformierte Antikörper

Natürliche, d. h. präformierte Antikörper, im Serum des Empfängers, die gegen das Spenderorgan gerichtet sind, wurden in jedem Hund am Tag 0 bestimmt. Dabei wurden vor allem die Xenohämagglutinine, komplementbindende Antikörper gegen xenogene, allogene und autogene Leber- und Nierenproteine bestimmt. Leukoagglutinationen wurden nur in einigen Fällen ausgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 28 als Mittelwert der Verdünnungen (Titer) dargestellt.

Tabelle 28

Gruppe	1	2	3	7	8	9
Titer:						
Xeno-Haggl.	18,7 ± 7,0	21,3 ± 5,3	16,0 ± 4,0	4,0 ± 1,6	8,2 ± 2,4	6,6 ± 2,4
Xeno-Laggl.	21,3 ± 5,3	8,6 ± 4,0	---------	-------	--------	--------
KbAK Xeno-Leber	29,0 ± 10,0	64,0 ± 30,2	64,0 ± 30,3	8,8 ± 2,1	12,0 ± 3,2	16,0 ± 4,3
KbAK Xeno-Niere	37,0 ± 14,0	---------	----------	16,0 ± 0,0	--------	16,0 ± 0,0
KbAK Allog-Leber	---------	---------	----------	4,4 ± 2,1	6,6 ± 2,4	13,5 ± 6,8
KbAK Allog-Niere	---------	---------	----------	8,0 ± 0,0	-------	12 0 ± 4,0

Titerstufen präformierter Antikörper im Serum von Empfängerhunden gegen xenogene und allogene Antigene vor Beginn der Behandlung. (Haggl. = Hämagglutinine, Laggl. = Leukagglutinine, KbAK. = Komplementbindende Anti Körper.)

4.2.1. Antikörperanstieg nach Vorbehandlung der Hunde mit löslichem Leberantigen

Durch Behandlung der Tiere der Gruppe 3 mit löslichem Schweineleberantigen, wurden die Titer der präformierten Antikörper durch aktiv erzeugte Antikörper überdeckt. Abbildung 5 zeigt, daß durch Vorbehandlung mit niederen Dosen von Schweineleberantigen die Titer der Xenohämagglutinine nicht gesteigert werden, während

komplementbindende Antikörper, die gegen die xenogenen Leber- und Nierenantigene gerichtet sind, signifikant ansteigen.

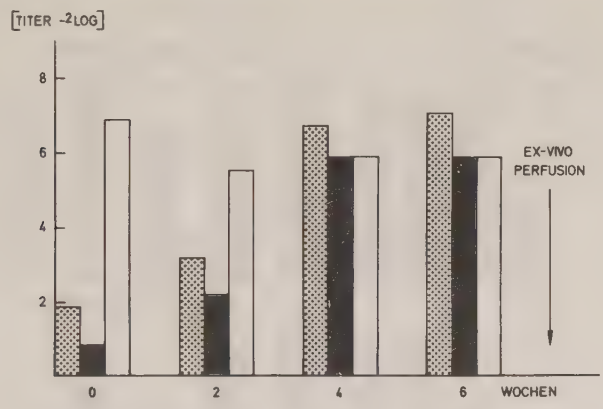


Abb. 5 Anstieg der Antikörpertiter nach Vorbehandlung von Hunden mit löslichem Schweineleberprotein. Die Titer der präformierten natürlichen Antikörper sind am Tag 0 aufgetragen.
(Gepunktete Säulen: komplementbindende Antikörper gegen Schweineleberantigen; schwarze Säulen: komplementbindende Antikörper gegen Schweinenierenantigen; weiße Säulen: hämagglutinierende Antikörper gegen Schweineerythrozyten.)

4.2.2. Antikörpertiteranstieg nach Vorbehandlung der Hunde mit Schafleberhomogenat

In Abbildung 6 ist der Verlauf der nachgewiesenen Antikörper über die Immunisierungsperiode eines Jahres aufgezeichnet. Zum Zeitpunkt 0 Monate, sind die präformierten Antikörper dargestellt. Die intra muskuläre Injektion von Schafleberhomogenat zusammen mit Freund's Adjuvans in 3wöchigen Abständen, führt zum Anstieg aller untersuchter Antikörper, der Xenohämagglutinine sowie der komplementbindenden Antikörper gegen Schafleber und Schafniere. Die Antikörper gegen

Schaferythrozyten und gegen das injizierte Antigen steigen rasch auf ein Plateau an. Antikörper gegen Schafnieren nehmen über 6 Monate stetig zu, fallen danach aber wieder ab. Die Ex-vivo-Perfusion führt in allen Antikörperarten zu einer Abnahme.

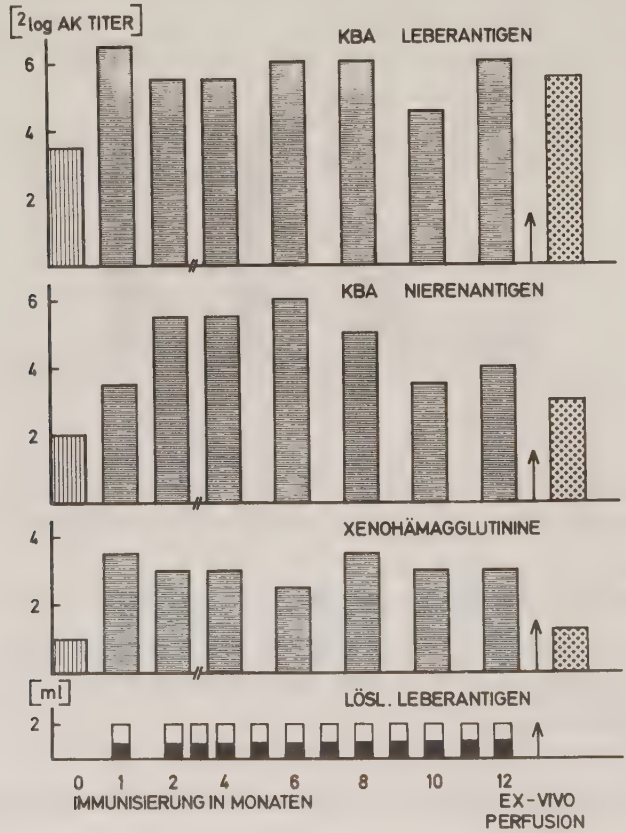


Abb. 6 Verhalten von komplementbindenden Antikörpern gegen Schafleber- und Schafnierenantigen, sowie von Xenohämagglutininen gegen Schaferythrozyten, während 12monatiger Immunisierung von Hunden mit Schafleberhomogenat und Freund'schem Adjuvans. Präformierte Antikörper (längs gestreifte Säulen) sind bei Monat 0 aufgetragen.

4.3. Verhalten der Antikörper im Verlauf der Ex-vivo-Hämoperfusion

4.3.1. Titer präformierter Xenohämagglutinine, wie sie in Gruppe 1 und 2 dargestellt werden, nehmen im Verlauf der Perfusion nur unwesentlich ab. Im Gegensatz dazu werden die durch Vorbehandlung mit löslichem Schweineleberantigen, Gruppe 3, oder Schafleberhomogenat, Gruppe 9, provozierten, hämagglutinierenden Antikörper rasch aus dem Kreislauf der Hunde entzogen. (Tab. 29, Abb. 7.)

Tabelle 29

Gruppe	1 (n = 6)	2 (n = 3)	3 (n = 6)	9 (n = 3)
Zeit (min)				
0	19 ± 5	21 ± 6	64	32
5	11 ± 3	19 ± 7	32	--
15	8 ± 0	16 ± 8	--	8
30	16 ± 0	16 ± 8	--	8
60	-----	19 ± 7	8	4
120		16 ± 8	4	10
180		16 ± 8	4	8
240		-----	4	6
300			2	8
360			2	8

Verhalten von Xenohämagglutininen im Laufe der Ex-vivo-Perfusion von Schweine- und Schafnieren. Die Titerstufen sind als Mittelwerte aufgetragen.

4.3.2. Komplementbindende Antikörper gegen xenogenes Leber- und Nierenantigen nehmen im Verlauf der Hämoperfusion ab. In Gruppen, in denen heterophile Antikörper durch Vorbehandlung erzeugt wurden, sinken die Titer schnell, (Tab. 30, Abb. 7) in Gruppen, in denen nur präformierte Antikörper vorhanden sind langsam ab. Antikörper gegen Leber und Niere werden gleich stark absorbiert.

Tabelle 30

Gruppe	1 (n = 6)	2 (n = 4)	3 (n = 6)	9 (n = 3)
Zeit (min)				
0	32 ± 12	64 ± 0	64	64
1	32 ± 8	64 ± 0	64	32
5	32 ± 3	64 ± 12	32	32
15	24 ± 8	64 ± 12	--	--
30	24 ± 8	56 ± 12	--	--
120	-----	40 ± 12	16	16
180		32 ± 0	16	8
300		------	8	8

Verhalten von komplementbindenden Antikörpern gegen xenogenes Leberantigen von Schweinen und Schafen im Laufe der Ex-vivo-Perfusion von Schweine- und Schafnieren. Die Titerstufen sind als Mittelwerte aufgetragen.

Tabelle 31

Gruppe	1 (n = 6)	3 (n = 6)	9 (n = 3)
Zeit (min)			
0	32 ± 12	32	32
1	21 ± 5	32	32
10	18 ± 5	--	--
30	12 ± 4	--	32
120	------	32	32
240		16	16
300		8	8

Verhalten von komplementbindenden Antikörpern gegen xenogenes Nierenantigen von Schweinen und Schafen im Laufe der Ex-vivo-Perfusion von Schweine- und Schafnieren. Die Titerstufen sind als Mittelwerte aufgetragen.

4. 3. 3. Das Verhalten von Leukagglutininen während der Ex-vivo-Perfusion ist in Tabelle 32 aufgetragen. In den beiden untersuchten Gruppen scheinen die Xeno-

leukagglutinine im Verlauf des Versuches zuzunehmen. Eine Korrelation der Werte beider Gruppen besteht nicht.

Tabelle 32

Gruppe	1	2
Zeit (min)	24 ± 6	8 ± 4
1	18 ± 8	8 ± 4
5	24 ± 8	12 ± 4
10	48 ± 16	18 ± 8
15	40 ± 24	-----
30	32 ± 0	18 ± 8
60	------	18 ± 8
120		16 ± 0
180		32 ± 8

Verhalten von Leukoagglutininen gegen Schweineleukozyten im Laufe der Ex-vivo-Perfusion von Schweinenieren. Die Titer sind als Mittelwerte aufgetragen.

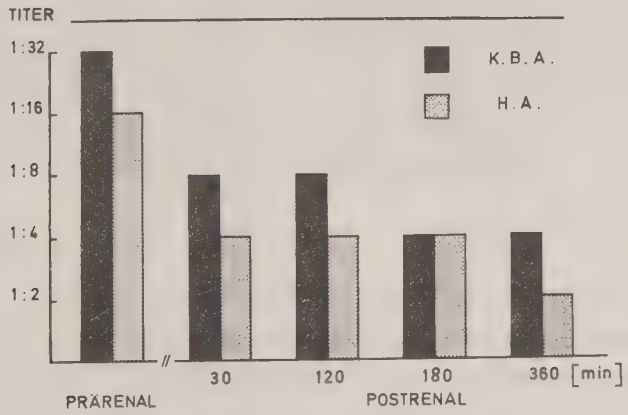


Abb. 7 a Verhalten von komplementbindenden Antikörpern gegen Schweinenieren-antigen (schwarze Säulen) und Xenohämagglutininen (graue Säulen) während der Ex-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch aktiv konditionierte Hunde (aktives Enhancement).

4.4. Komplementverhalten bei xenogener Ex-vivo-Perfusion

4.4.1. Die hämolytische Aktivität von Komplement wurde im arteriellen und im venösen Blut der perfundierten Nieren bestimmt und in % der AVD ausgedrückt.
In Abhängigkeit von der Versuchsdauer, kommt es in allen Gruppen zu einer Inaktivierung der Hämolyseaktivität des Komplements im Laufe der Perfusion. Auffallend ist der rasche Verbrauch von Komplement in den Kontrollgruppen beider Systeme, sowie in den Gruppen, in denen die Tiere in irgendeiner Form sensibilisiert wurden. In den Gruppen, in denen den Hunden vor dem Versuch Hyperimmunserum übertragen wurde, Gruppe 5 und 9, wird die hämolytische Aktivität des Komplements langsamer verbraucht (Tab. 33).

Tabelle 33

Gruppe	1 (n = 3)	2 (n = 4)	3 (n = 8)	5 (n = 3)	6 (n = 1)	9 (n = 2)
Zeit (min)						
1	49,0 ± 7,0	33,5 ± 10,5	21,5 ± 2,8	27,3 ± 4,4	22,0	10,2
5	65,0 ± 9,8	43,0 ± 3,0	28,9 ± 6,5	27,3 ± 4,4	30,1	29,6
15	65,0 ± 7,8	57,0 ± 11,0	46,6 ± 8,0	49,7 ± 9,0	55,0	26,6
30	80,0	65,0 ± 25,0	64,5 ± 12,3	42,5 ± 8,7	52,5	47,8
60	---	73,5 ± 3,5	84,3	57,2 ± 9,2	84,0	20,5
90		86,0 ± 2,5	80,6	52,8 ± 12,8	84,7	15,0
120		91,0 ± 10,1	83,6	53,3 ± 11,3	----	44,0
180		---	82,0	65,8 ± 2,1	----	70,5
240				50,9		47,4
300				16,0		47,4
360				10,0		64,2

Verhalten der hämolytischen Aktivität von Komplement, ausgedrückt als AVD in %, während xenogener Ex-vivo-Perfusion von Schweine- und Schafnieren. Es wurde die 50 % Hämolyse C'H-50 im Serum gemessen.

4.4.2. Verhalten von Serumprotein ß/1c = C'3

Die Komplementfraktion ß/1c, entsprechend der Nomenklatur C'3, wird nur in den ersten 30 Minuten aus dem Perfusionsblut entzogen. Später bleibt C'3 unbeeinflußt.

Die Abnahme des Proteins ß/1c wurde semiquantitativ im Diffusionstest nach Mancini bestimmt und als AVD C'ß/1c in % ausgedrückt (Tab. 34).

Tabelle 34

Gruppe	1 (n = 3)	6 (n = 3)	7 (n = 3)	9 (n = 3)
Zeit (min)				
1	20,5	----	17,5	8,7
3	1,0	17,6	21,5	4,3
5	3,0	----	----	----
10	8,3	36,8	----	4,3
30	5,7	20,8	21,5	0,0
60	0,0	10,0	2,5	12,5
120	----	0,0	10,0	0,0
180		----	0,0	0,0

Verhalten von C'3 im arteriellen und venösen Blut xenogen perfundierter Nieren (Schwein und Schaf) ausgedrückt als % AVD-C'3 während der Hämoperfusion.

In Abb. 7 ist die Abnahme von C'3 im Verhältnis zum Verlust der hämolytischen Aktivität aus einem Versuch der Gruppe 6 aufgetragen. C'H-50 erreicht nach 30 Minuten einen Tiefpunkt und bewegt sich im weiteren Versuchsablauf auf diesem Niveau. C'3 zeigt wie C'H-50 eine Abnahme in den ersten 30 Minuten die verglichen mit der Abnahme der hämolytischen Aktivität jedoch wesentlich geringer ist. Eine weitere nachweisbare Abnahme von ß/1c findet im Versuch nicht statt.

4.5. Histämie und Histurie

Das Auftreten von empfängerfremdem Protein im arteriellen Blut und im venösen Efflux der xenogenen Niere wird in den Abbildungen 8 und 9 dargestellt. Übereinstimmend steigt in allen Versuchen der Gehalt von xenogenem Schweineprotein im venösen Efflux der perfundierten Schweineniere stark an. Dabei konnten in den ersten Minuten nach Beginn der Perfusion Werte um 0,5 g% im venösen Blut nachgewiesen werden. Nach etwa 20 Minuten erreicht der Gehalt von Schweineprotein auch im arteriellen Blut einen Fremdproteinspiegel von rund 0,2 g%. Um diese Zeit ist der Ge-

halt im venösen Blut auf ähnlich niedere Werte abgefallen. Zwei der untersuchten Nieren erzeugten Urin. In jedem Fall lag die gemessene Menge Schweineprotein im Urin höher als im Serum (Abb. 9).

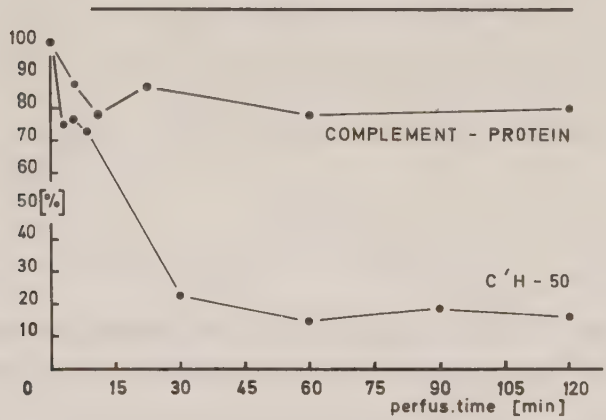


Abb. 7 Vergleichende Darstellung des Verhaltens von C'3 und C'H-50 im Ablauf einer Ex-vivo-Perfusion einer Schweineniere durch einen Hund der Gruppe 6.

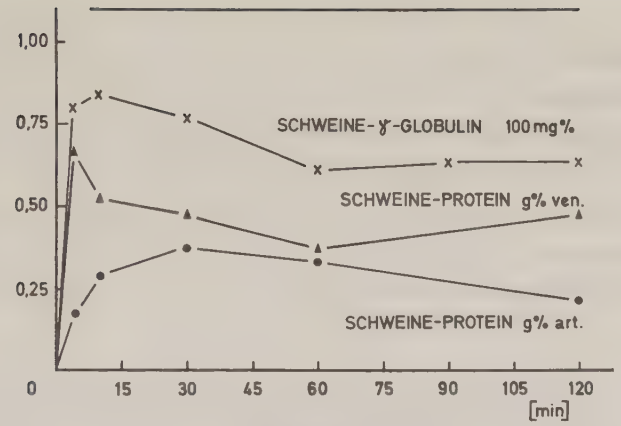


Abb. 8 Auftreten von Spendernierenprotein sowie Schweine y-Globulin im arteriellen und venösen Blut einer Ex-vivo-perfundierten Schweineniere durch einen mit Schweineleberprotein vorbehandelten Hund.

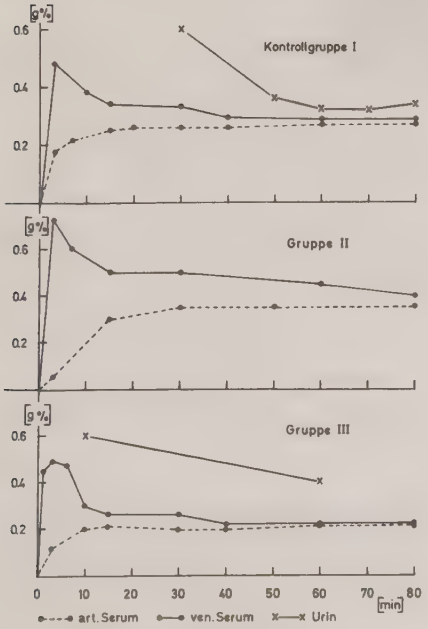


Abb. 9
Histämie und Histurie bei Ex-vivo perfundierten Schweinenieren der Gruppe 1, 2 und 3. Aus jeder Gruppe wurde ein Einzelversuch aufgezeichnet. Die Niere der Gruppe 2 erzeugte keinen Urin.

4.6. Vasoaktiver Effekt des produzierten Urins Ex-vivo perfundierter Schweinenieren

Urinproben hämoperfundierter Schweinenieren, die in den arteriellen Schenkel des Kreislaufs unbehandelter Hunde injiziert wurden, wiesen ein vasoaktives Prinzip auf. Proben aus der Perfusionszeit um 2 Stunden zeigen einen schnellen Anstieg des Blutdruckes mit einem langsamen Abfall. Dieser Effekt is wiederholbar und scheint nur schwach von der Menge des injizierten Urins abzuhängen. Nach 5 Stunden folgt der Urinverabreichung ebenfalls ein Anstieg, der jedoch von einen auffallenden Abfall des Blutdruckes gefolgt ist (Abb. 10).

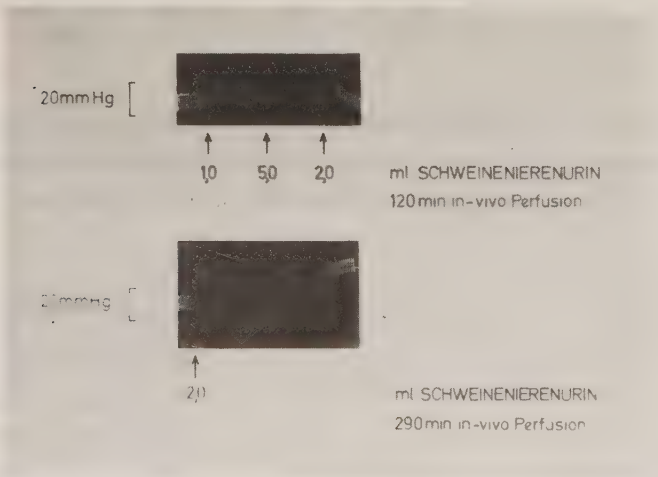


Abb. 10 Vasoaktiver Effekt des Urins Ex-vivo perfundierter Schweinenieren auf den Blutdruck unbehandelter Hunde.

D. DISKUSSION

Transplantationen von Organen zwischen verschiedenen Tierarten wurden seltener durchgeführt, als zwischen Individuen derselben Spezies. Der Grund liegt darin, daß die Probleme der biologischen Barriere, die bei der Xenotransplantation auftreten, die ohnehin großen Schwierigkeiten die bei Allotransplantaten und deren Abstoßungskrisen bekannt wurden, weit überschreiten.
Die unzureichende Definition der hyperakuten, xenogenen Abstoßungsreaktion (HXAR) kann auf den explosiven Verlauf dieses Geschehens und dem damit verbundenen Mangel an verläßlichen Kriterien und meßbaren Parametern zurückgeführt werden. Im Laufe der meisten xenogenen Abstoßungsreaktionen bei weit entfernt verwandten Tierarten, kommt es zu keiner echten Funktion des Organes. Der Ablauf der HXAR und eventuell auftretende Funktionen können aus diesem Grund nicht ausreichend an Transplantaten untersucht werden. Es wurde deshalb auf das Modell der extracorporalen Ex-vivo-Perfusion zurückgegriffen, das die Möglichkeit gab, zu jeder gewünschten Zeit, Blut aus Arterie und Vene der Niere zu entnehmen und gleichzeitig den produzierten Urin zu sammeln. Die Wertigkeit dieses Modells wurde ausführlich diskutiert (3, 26).

a. Antikörper und deren Funktion bei der hyperakuten, xenogenen Abstoßungsreaktion

Es gilt heute als gesichert, daß Antikörper an der Abstoßungsreaktion beteiligt sind. Werden vaskularisierte Organe von fremden Individuen durchblutet, so kommt es in den meisten Fällen zur Abstoßung des Transplantates. Findet dieser Prozeß der immunologisch bedingten Organzerstörung innerhalb von 24-48 Stunden statt, so spricht man von einer hyperakuten Abstoßung (112). Diese schnellste und heftigste aller Abstoßungsreaktionen tritt ein, wenn die Empfänger durch eine vorangegangene Transplantation sensibilisiert wurden, durch Schwangerschaft, wiederholte Bluttransfusion oder eventuell durch Infektionen zur Bildung von Antikörpern angeregt wurden.

In allen bisher beschriebenen Abstoßungskrisen dieses Modus, wurden Antikörper nachgewiesen. Dabei handelt es sich im allogenen System um Antikörper gegen Hi-

stokompatibilitätsantigene, die auf der Oberfläche der Zellen nachgewiesen wurden (26, 57, 75, 83, 121, 127) oder um kreuzreagierende Antikörper, die bei früheren Infektionen gegen Bakterien und Viren gebildet wurden(55, 56). Bei der xenogenen Abstoßungsreaktion sollte unterschieden werden zwischen Organtransplantationen bei engverwandten Tierarten, etwa innerhalb einer zoologischen Familie und solchen größerer zoologischer Disparität. In Tierarten einer Familie wurden bisher keine präformierten natürlichen Antikörper gefunden (23,32, 100) eine Ausnahme bilden nur die homoiden Affen (107, 108). Bei Transplantationen von Schimpansennieren auf Menschen wurden in allen Empfängern präformierte Antikörper gegen Schimpansengewebe gefunden. Dabei handelte es sich jedoch in erster Linie um Antikörper gegen Erythrozyten, sogenannte Xenohämagglutinine, die den menschlichen Isoagglutininen sehr ähnlich sind. Die weitere Austypisierung ergab, daß bei den Menschen und den homoiden Primaten eine große Ähnlichkeit in den Blutgruppenantigenen besteht, jedoch keine Identität. So gelang es nicht, im menschlichen Serum vorhandene Antikörper, die gegen Erythrozyten der Blutgruppe A des Schimpansen gerichtet sind, durch menschliche Erythrozyten der Gruppe A zu absorbieren. Es gelang zwar die Antikörper gegen die Blutgruppe A des Menschen vollständig zu eliminieren, Xenohämagglutinine gegen die A-Erythrozyten des Schimpansen blieben dennoch erhalten (20, 107, 108). Diese Spezies-spezifischen Antikörper nahmen nach Transplantation einer Schimpansenniere, deren Spender die Blutgruppe A besaß, im menschlichen Empfänger noch zu. Es handelt sich um präformierte natürliche Antikörper gegen eine xenogene Komponente der Blutgruppe A beim Schimpansen. Die hohe Spezifität der Blutgruppen, die in keiner anderen Tierordnung so extrem ausgebildet ist wie bei Menschen und Primaten, kann deshalb als Grund für die heterologe Reaktion der Hämagglutinine bei Primaten angesehen werden. Neben einer Anzahl von Alloantigenen, die Mensch und Schimpanse gemeinsam sind, besitzen die Schimpansen ein oder mehrere starke Antigene, die vom menschlichen Organismus als speziesfremd, xenogen erkannt werden. Trotz dieser Antigene ist es gelungen Schimpansennieren bei Menschen über Monate funktionstüchtig zu erhalten (107, 108).

Nieren von Pavianen, Primaten die dem Menschen weniger verwandt sind als Schimpansen, wurden von Menschen in wenigen Tagen bis Wochen abgestoßen. Die präformierten natürlichen Antikörper, die regelmäßig auftraten, wurden von

den Nierentransplantaten absorbiert (118). Die Ähnlichkeit der Blutgruppen von Pavian und Mensch ist noch geringer als von Mensch und Schimpanse.
Untersucht man Tierarten, die der zoologischen Ordnung nach entfernt verwandt sind, so gelingt es in den meisten Kombinationen, präformierte natürliche Antikörper nachzuweisen (22, 39, 76, 95, 102, 106). Aus diesen Ergebnissen stellt sich die Frage, ob der Abstoßungsreaktion, die auf jeden Fall abhängig ist vom Verhältnis Spender zu Empfänger

z. B. allogen/identisch - subakute Abstoßungsreaktion
allogen - akute Abstoßungsreaktion
xenogen/nahverwandt - akute xenogene Abstoßungsreaktion
xenogen/entfernt - hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion

ein quantitativer Faktor, wie Anzahl der Zelloberflächenantigene, Heterogenität der Antigendeterminanten oder der Antikörper beziehungsweise ein qualitatives Moment wie Avidität der Antikörper und seine physikalisch, chemischen Eigenschaften zugrunde liegen. Für die präformierten natürlichen Antikörper stellt sich die Frage nach ihrer Herkunft und wie identisch ein Antigen zweier entfernt verwandter Tierarten ist, wie heftig eine Antigen-Antikörperreaktion zwischen einem xenogenen Antigen und einem präformierten natürlichen Antikörper ablaufen kann.

Bis heute ist eine Antikörperbildung ohne vorherige Stimmulation durch das Antigen nicht bekannt. Persorption oder permanenter Kontakt zwischen Tierarten wurden als Ursache für die Entstehung präformierter Antikörper diskutiert (125). Zwar konnte nachgewiesen werden, daß ganze Proteinmoleküle resorbiert werden, doch wurde nach einer Antikörperbildung nicht gesucht. Inwieweit die Antigenizität solcher Moleküle für die Persorption eine Rolle spielt ist unbekannt. Der Theorie steht entgegen, daß es bis heute nicht möglich ist, mit abgetöteten Keimen peroral einen Impfschutz zu erzeugen. Bei der peroralen Impfung gegen Polimyelitis handelt es sich um einen Lebendimpfstoff.
In vorläufigen Untersuchungen kommt zum Ausdruck, daß eine Voraussage über den Antikörpertiter natürlicher Antikörper gegen eine andere Tierart nicht gemacht werden kann, selbst innerhalb einer Spezies treten sehr starke individuelle Schwankungen auf. Lediglich Jungtiere und Säuglinge zeigen wenn überhaupt, niedere präformierte Antikörper. Diese Erscheinung läßt sich auf die insuffiziente Immunreak-

tion zu dieser Zeit zurückführen (8, 19).
Kaplan und Mitarbeiter diskutieren in Arbeiten (55, 56), daß gegen Bakterien gerichtete Antikörper mit Zellantigenen kreuzreagieren können. Solange der Charakter der präformierten Antikörper und deren Zugehörigkeit zu spezifischen Serumproteinen nicht geklärt ist, kann eine unspezifische Reaktion im Sinne einer Kreuzreaktion nicht ausgeschlossen werden. Da in fast allen untersuchten Säugetierarten präformierte Antikörper gegen andere Spezies, in mehr oder weniger hohen Titern gefunden werden, besteht die Möglichkeit, daß ein Fossilverhalten vorliegt, eine Erscheinung, die sich auf frühere Gegebenheiten bezieht, die heute nicht mehr existent sind. Geht man von der Tatsache aus, daß im Laufe der Evolution aus einem Ursäuger alle Säugetierspezies entstanden sind, so differenzierten sich auch die Proteine zu immer spezifischeren Substanzen aus. Der Antigencharakter veränderte sich von einer Form zur anderen dabei nur leicht. Am Beispiel der Isoagglutinine von Mensch und Schimpanse ist zu ersehen, daß ein Antigen, ob Blutgruppen- oder HL-Antigen, sich selbst in einem sehr eng verwandten System schon unterscheiden.

Wendet man die Theorie der "Clonal-Selection" auf diese These an, die unter anderem besagt, daß auf jedem Chromosom die Möglichkeit zur Produktion jedes denkbaren Proteins determiniert ist, so gilt dies auch für Antikörper. Zur Produktion von Antikörpern ist der Antigenstimulus Voraussetzung. Andererseits müssen Klone gegen körpereigenes Protein tolerant sein, ein Phänomen, das heute immer mehr als ein aktiver Prozeß betrachtet wird (1). Diese Toleranz muß solange erhalten bleiben, wie ein körpereigenes Antigen besteht. Ändert sich die Antigenstruktur im Laufe der Evolution, so wird diese Information zur Aufrechterhaltung der Toleranz frei und der Klonus kann Antikörper produzieren. Da das spezifische Antigen fehlt kann es nicht zu einer Antigen-Antikörperreaktion kommen, die Antikörper sind für dieses Individuum apathogen.
Daß diese Antikörper dennoch permanent entstehen, auch ohne den Reiz des Antigens, könnte auf einer Art "Grundumsatz" der immunkompetenten Zellen zurückgeführt werden, der nötig ist, um die Mengen von Protein, respektive γ-Globulin zu erzeugen, die für die Lebensfähigkeit des Organismus Voraussetzung sind.

Andererseits könnte es sich um einen Entkoppelungsmechanismus handeln, eine Art "Feed-back", der in Gang kommt, nachdem die Aktivleistung zur Aufrechter-

haltung einer Toleranz, die auf einen dauernden Antigenreiz angewiesen war, entfällt. Je mehr derartige fossile Antigene eines Tieres sich von denen des anderen Individuums unterscheiden, desto höher müssen die gemessenen Antikörper sein. Je mehr Antigendeterminanten eine Tierart mit der anderen teilt, umso niederer sind die Antikörper-Titer. Tierarten, die in der Evolution vor dem Entstehen eines spezifischen neuen Antigens sich aus der Entwicklungsreihe abgespalten haben, dürften keine Antigengemeinschaft und keine präformierten Antikörper dagegen aufweisen. Es bleibt die Frage, ob provozierte Antikörper gegen das gleiche Antigen auch vom gleichen Klonus gebildet werden wie die präformierten Antikörper. Die Spezifität der präformierten Antikörper ließe dies vermuten, auch wenn provozierte und präformierte Antikörper nicht der gleichen Globulinklasse angehören.

In einigen Studien kommt zum Ausdruck, daß natürliche präformierte Antikörper gegen speziesfremde Antigene wie z. B. Erythrozyten, lösliche Proteine von Leber und Niere in jedem Fall bei Hunden nachgewiesen werden können. Gegen lösliche Proteine im allogenen System treten nur unwesentliche Titer auf.
Behandelt man Hunde mit löslichem Protein der Leber von Schwein und Schaf, dann steigen die Titer aller untersuchter xenogener Antikörper an. Dabei scheinen die Antigendosen und die Dauer der Behandlung beim Hund was die Höhe der Antikörpertiter anbetrifft, keine wesentliche Rolle zu spielen. Schon nach einem Monat sind die endgültigen Titer erreicht. Daß im Laufe der Immunisation ein sogenannter "switch" zu anderen Antikörperklassen stattfindet muß angenommen werden. Eine Organspezifität dieser provozierten Antikörper kann nicht nachgewiesen werden. (Siehe Abb. 5 und 6.)
Zwischen dem Verhalten der natürlichen und der provozierten Antikörper im Laufe der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion kann unterschieden werden. Natürliche Xenohämagglutinine werden langsamer in den perfundierten Organen absorbiert als provozierte Antikörper. Komplementbindende Antikörper gegen Leber, die präformiert sind, werden langsam, solche die durch Sensibilisierung erzeugt wurden schneller dem Kreislauf entzogen. Komplementbindende Antikörper, die spezifisch gegen Ex-vivo perfundierte xenogene Organe gerichtet sind verhalten sich offensichtlich verschieden. Präformierte Antikörper nehmen rasch ab, schneller als in den oben beschriebenen Antikörperklassen, während die Antikörpertiter

der provozierten Antikörper sich langsamer verändern. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß durch Immunisierung mit Leberantigen eine Vielzahl zwar speziesspezifischer Antikörper gebildet werden, die aber nicht besonders organspezifisch reagieren und deshalb auch zu unspezifischer Absorption neigen. Präformierte Antikörper dagegen scheinen spezifischer oder träger zu reagieren.

Damit verbunden ist die Frage nach den cytotoxischen Eigenschaften dieser Antikörper. Nimmt man an, daß spezifische Antikörper einen cytotoxischen Effekt entwickeln, dann müßten präformierte Antikörper in der Lage sein, von sich aus durch die Antigen-Antikörperreaktion die hyperakute xenogene Abstoßung einzuleiten. Provozierte Antikörper gegen lösliche Leberantigene machen wie aus Absorptionsstudien hervorgeht, einen heterogenen Eindruck (82). Ihre Absorption in der Niere deutet darauf hin, daß sie mit Zellantigenen unspezifisch reagieren, oder Leber und Niere viele Antigene teilen. Ob diese unter anderem auch Komplement-verbrauchenden Antikörper sterisch so spezifisch sind, daß sie in vivo eine cytotoxische Reaktion einleiten können ist nicht sicher. Vielmehr bietet sich an, daß viele Antigendeterminanten durch diese relativ ungefährlichen weil unspezifischen Antikörper besetzt werden und damit für den Zugang cytotoxischer Antikörper blockiert werden. Ihre geringe Spezifität macht es wiederum möglich, daß sie im Laufe der Zeit, nachdem sie keine bindende Reaktion eingehen, vom Antigen wieder abgeschwemmt werden und damit das Antigen wieder freisetzen, so daß ein spezifischer Antikörper in Reaktion treten kann. Auf diese Vorstellung wird im Kapitel Enhancement (siehe Seite) eingehender eingegangen. Bei der Abstoßung vaskularisierter Allotransplantate kann IgG und IgM auf und in den Gefäßwänden von Kapillaren histiochemisch nachgewiesen werden (77, 89). Ähnliche Befunde werden auch in Xenotransplantaten beschrieben (1, 29).

Diese Globuline stellen den Hauptanteil der Antikörper dar. Die Abnahme zirkulierender Antikörper und die gleichzeitige Zunahme von Immunglobulinen in Form von Ablagerungen in den Transplantaten, ebenso die nach Extirpation der Transplantate in die Höhe schnellenden Titer der Antikörper sprechen dafür, daß die spezifischen Antikörper an die Antigen-loci gebunden werden und so, abhängig von der Menge und der Aggressivität, den Zeitpunkt der Organabstoßung bestimmen (69). Die Zugehörigkeit der präformierten Antikörper zu einer Globulingruppe ist nicht gesichert.

Man vermutet sie jedoch in der IgM Fraktion. Von den provozierten Antikörpern der IgG Fraktion gehören die früh gebildeten Antikörper den 19 s Antikörpern an, ihnen wird die cytotoxische Fähigkeit zugeschrieben (54). Beide Arten von Antikörpern reagieren bei der Antigen-Antikörper Reaktion mit Komplement, bilden Komplexe, die ihrerseits chemotaktisch auf Thrombozyten und Leukozyten wirken. Diese letztgenannten Faktoren sind im weiteren Ablauf der Abstoßungsreaktion mitverantwortlich zu machen.
Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die hyperakute, durch Antikörper bedingte Abstoßungsreaktion allein auf Grund der beteiligten Antikörper in 4 verschiedene Arten eingeteilt werden muß:

1. Die hyperakute Abstoßungsreaktion von Organen die auf spezifisch vorsensibilisierte Empfänger transplantiert werden (second set). Dabei handelt es sich um streng organ- und speziesspezifische Antikörper, nachgewiesenermaßen auch um gegen Histokompatibilitätsantigene gerichtete Antikörper.

2. Die hyperakute Abstoßungsreaktion bei Empfängern mit präformierten Antikörpern, die jedoch auf eine unauffällige Art der Sensibilisierung, wie häufige Bluttransfusionen oder Geburten zurückzuführen sind.

3. Die hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion bei engverwandten Tierarten z. B. Primaten, die zwar in vielen Blutgruppenantigenen und Histokompatibilitätsantigenen übereinstimmen, jedoch einige Differenzen aufweisen, gegen die präformierte Antikörper bestehen.

4. Die hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion in Systemen, in denen keine oder nur wenige identische Antigene bestehen. Diese Abstoßungsreaktion kann heftiger sein als die der Gruppe 1.

Präformierte natürliche Antikörper scheinen die gleiche Fähigkeit zu haben wie spezifische Antikörper, indem sie eine hyperakute Abstoßung einleiten können.

Je weiter die Antikörperstrukturen und die immunochemischen Abläufe der Antigen-Antikörper Reaktionen aufgeklärt werden, umso unwahrscheinlicher wird die Möglichkeit, daß unspezifische Proteine in irgendeiner Situation als Antikörper reagieren.

b. Die Rolle von Komplement C', bei der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion

Eine Antigen-Antikörper Reaktion an sich, ist noch nicht fähig eine Zelle zu zerstören oder die Zellmembran aufzulösen. Die Zytolyse kommt durch die Aktivierung eines humoralen Systems, des Komplements, das aus 9 definierten Faktoren besteht und etwa 10 % der Serumglobuline des Menschen ausmacht, in Gang. Außer für die Zytolyse, ist Komplement für die Freisetzung von Histamin aus den Mastzellen und Thrombozyten, Kontraktion glatter Muskeln, Änderung der Kapillarpermeabilität und die Migration von Thrombozyten und polymorphkernigen Leukozyten verantwortlich (87).
An der Abstoßung allogener Organe ist Komplement beteiligt (27, 67, 127). Dabei scheint die Abnahme gemessen am Schwund des Faktors C'3 oder als Globulinfraktion ausgedrückt als ß1c/ß1a, in der frühen Phase der Abstoßung mit der Abnahme von IgM zu coinzidieren (27). Beide Komponenten können mit Hilfe der Immunfluoreszenz oder radioaktiver Markierung in den abgestoßenen Organen nachgewiesen werden (29, 119). Diese Reaktion ist im allogenen System so schwach, daß sie ihre anfängliche Funktion als Frühdiagnostik der Abstoßungskrise nicht erfüllen konnte.

Im Gegensatz dazu wird durch die Antigen-Antikörper Reaktion im xenogenen System Komplement in unerwartet großem Maße aktiviert und damit die heftige hyperakute xenogene Reaktion eingeleitet. In beiden untersuchten Systemen, Schwein-Hund und Schaf-Hund kommt es innerhalb der ersten 30 Minuten zu einem Abfall der Hämolyseaktivität des Komplements C'H-50, auf 20 - 30 % (35, 84). Die Angaben der Literatur unterscheiden sich je nachdem ob die Abnahme im Gesamtblut (29, 35, 70, 80, 86, 99) oder im venösen Efflux gemessen werden (29, 99).
Bei unbehandelten Empfängern fällt C'H-50 konstant im Laufe der hyperakuten xenogenen Reaktion auf Werte um 10 % ab. Diese Schwundrate steht in keinem Verhältnis zur Abnahme der gemessenen Antikörper und der mittels eines spezifischen Antiserums bestimmten C'3 Fraktion. Die quantitative Bestimmung von ß1c-Protein im Ex-vivo Kreislauf stimmt nur insofern mit der C'H-50 Bestimmung überein, daß in den ersten Minuten bis zu 30 % des C'3 in der Niere abgefangen werden. Danach stellt sich ein Gleichgewicht ein, bei dem C'3 weit über der Konzentration liegt, die aus den C'H-50 Messungen erwartet wird.

Während der Antigen-Antikörper Reaktion findet eine Umwandlung statt, bei der ein Protein 2 α D = C'3a abgespalten wird. Diesem Komplementanteil wird eine anaphylaktische Wirkung zugeschrieben (70). Das nun entstandene ß1a teilt noch immer seine Antigenstruktur mit ß1c. Es müßten deshalb weiterführende Untersuchungen mit spezifischen Antiseren gegen alle drei C'Faktoren durchgeführt werden, sollte eine echte Koordination zwischen ß1c und C'H-50 aufgestellt werden.

Der erste Verdacht, daß es im Laufe der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion zu einer Entkoppelung der C'-Reaktion durch Störung der C'1-Esteraseinhibitoren kommt, wurde durch eigene Messungen der C1-Esterase ausgeschlossen.

Die Enzym-Substratkurve verläuft normal. Ein By-pass Phänomen das nur die Faktoren C'5 - 9 einbezieht, kann durch diese Untersuchung nicht ausgeschlossen werden. In histochemischen Untersuchungen konnte C'3 in Form von Ablagerungen in xenogenen Nieren, besonders in den peritubulären Kapillaren wiedergefunden werden (29, 80, 84, 86). Eine Erklärung für den übermäßigen Verlust an hämolytischer Aktivität steht noch aus.

Interessante Versuche an Kaninchen, die einen angeborenen Mangel an C'6 aufweisen, haben gezeigt, daß die Abstoßungszeit von Hundenieren in diesen Tieren nicht beeinflußt wird. Alle bisher bekannten Phänomene der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion traten in bekannter Weise und im selben Ausmaß auf (79). Wird dagegen das gesamte Komplement-System durch einen Faktor aus Kobragift gelähmt (90, 116) oder allein C'4 durch den "shark inaktivator" (52), die Funktionsfähigkeit genommen, kann eine signifikante Verzögerung der hyperakuten xenogenen Abstoßung erreicht werden. Es ist also möglich, daß zum Ablauf der hyperakuten xenogenen Abstoßung nur die Faktoren C'1 - 4 benötigt werden, während die hämolytische Komponente C'5 - 9 durch weitere, noch unbekannte Reaktionen verbraucht werden (5/2).

Im Ablauf einer Antigen-Antikörper Reaktion setzt ein IgM Molekül oder 2 IgG Moleküle, die an zwei nebeneinanderliegenden Antigendeterminanten sitzen, nur ein einziges C'1 Molekül in Aktion (85). Durch Einbeziehung des C'3, das als Katalysator für viele C'4 gilt, nimmt die Abstoßungsreaktion einen explosiven Charakter an. Außer der cytotoxischen Reaktion stimuliert Komplement noch andere Vorgänge, von denen nur wenige näher bekannt sind.

c. Verhalten von Thrombozyten in der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion

Eine Zählung der Thrombozyten im arteriellen und venösen Blut zeigt, daß zunehmend bis zum Ende der Abstoßung fast alle Thrombozyten in der xenogenen Niere verbleiben. Auch bei transplantierten Nieren nehmen die Blutplättchen im venösen Blut um mehr als 50 % ab (72, 75, 111, 112). In histologischen Schnitten können diese Zellen nur selten und nie in dem erwarteten Ausmaß gefunden werden.
Durch die Markierung von Thrombozyten mit J^{131} und der Bestimmung der Radioaktivität in verschiedenen Organen konnte gezeigt werden, daß Thrombozyten in erster Linie in der xenogenen Niere abgefangen werden. Die Schwierigkeit des Nachweises dieser Zellen liegt darin, daß Antigen-Antikörper Reaktionen bei Thrombozyten zu einer "viskösen Metamorphose" (98) und zur Lyse der Thrombozyten führen. Unter dieser Veränderung werden verschiedene Substanzen frei, darunter auch Histamin (5, 9, 98). Zur Reaktion selbst können entweder alle Komplementfaktoren gemeinsam oder auch nur ein Teil davon beitragen.
Außer Histamin wird der Plättchenfaktor 3 mobilisiert der die Gerinnung zu Fibrin weiterstimuliert, während aktives Plasmin von C'3 einen Faktor abspalten kann, der eine chemotaktische Wirkung auf Leukozyten ausübt (124/1). Zusätzlich hat C'5a einen chemotaktischen Effekt auf Leukozyten und Monozyten, die ihrerseits besondere Rezeptoren für Komplement auf ihrer Oberfläche aufweisen (45, 65, 117, 124/2).

d. Verhalten von Leukozyten und Lymphozyten in der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion

In eigenen Untersuchungen wurden Ergebnisse gefunden, die mit den Angaben der Literatur übereinstimmen: Polymorphkernige Leukozyten werden in den ersten Minuten in die hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion einbezogen. Die maximale Absorptionsrate erreichen sie nach 15-30 Minuten. Die AVD-Polymorphkerniger Leukozyten geht also zeitlich mit der AVD-Thrombozyten parallel, ohne deren schnellen anfänglichen Abfall und deren extreme Werte zu erreichen. Während Thrombozyten weder in den abgestoßenen Organen gefunden werden, noch deren Zahlen sich wieder erholen, findet man Polymorphkernige Leukozyten in großer Anzahl in den peritubulären Kapillaren, im Interstitium und in den Glomeruli.

Nach 30 Minuten beginnen die Leukozytenzahlen sich wieder zu steigern. Nach 90 Minuten erreichen sie im venösen Efflux 70 % des Ausgangswertes. Lymphozyten werden bei der hyperakuten xenogenen Abstoßung zwar beeinflußt, scheinen aber höchstens passiv daran beteiligt zu sein. Sie weisen von Anfang an eine AVD von 30 % auf, ohne den Schwankungen der anderen Parameter, die der Heftigkeit der Abstoßungsreaktion entsprechen, zu folgen.

e. Vasoaktive Prinzipien bei der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion

Im Verlauf der Antigen-Antikörper Reaktion der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion, in die Komplement, Thrombozyten, Leukozyten und einige andere Substanzen verwickelt sind, kam es zum Abfall des RBF als Folge des Anstiegs des Gefäßwiderstandes durch Vasokonstriktion. In eigenen Versuchen konnte ein vasoaktives Prinzip in allen Gruppen der xenogen perfundierten Schweine- und Schafnieren nachgewiesen werden. Angeregt durch ähnliche Beobachtungen postulieren viele Autoren den Einfluß verschiedenster Substanzen auf die hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion im Sinne einer Vasokonstriktion (5, 40, 52, 88, 111) ohne daß bis jetzt eine Substanz identifiziert worden wäre. Serotonin, Kinine und Katecholamine sowie ein hitzelabiles Anaphylotoxin C'3a und C'5a (707) konnten als verantwortliche Faktoren ausgeschlossen werden (81). Die Art der aufgezeichneten Kurven und das verschiedene Verhalten zu bestimmten Zeiten unterstützen dabei eher die Annahme, daß es sich um ein dynamisches System handelt, das zusätzlich aus mehreren Faktoren besteht.
Die Permeabilitätsstörung, die durch Komplement (5, 40) oder andere noch unbekannte Faktoren hervorgerufen wird, dezimiert mit dem damit verbundenen interstitiellen und intrazellulären Ödem, den RBF außerdem mechanisch.

f. Eiweißfreisetzung aus xenogenen Nieren im Laufe der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion

Solange die hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion noch in ihrem Aufbau begriffen ist und den Höhepunkt bei 30 Minuten noch nicht erreicht hat, beginnen erste Zerfallerscheinungen am xenogenen Organ deutlich zu werden. Sowohl venöse Serumproben der ersten Minuten wie auch der Urin, enthalten antigene Faktoren, die mit

monospezifischen Antiseren gegen Spenderserumproteine qualitativ und quantitativ dargestellt werden können. Da die transplantierten Organe vor der Ex-vivo Perfusion von Spenderblut leer gespült wurden, kann es sich in diesem Fall nur um einen venösen Efflux von Makromolekülen mit antigenen Eigenschaften aus der Niere handeln. Man spricht im Falle von Fremdprotein im Urin von "Histurie" im Falle des Serums von "Histämie" (2a).

Übereinstimmend kommt es bei xenogenen Nieren zu Höchstwerten von Fremdprotein im Urin der xenogenen Niere und zu relativ hohen Werten im venösen Blut schon nach 3 Minuten. Arterielle Blutproben zum Zeitpunkt Null enthalten keine fremden Proteine. Durch Rezirkulation kommt es jedoch auch im arteriellen Blut nach 10minütiger Hämoperfusion zu einem Plateau, das nach den ersten Spitzen auch von den Werten der venösen Histämie eingenommen wird. Urin, venöses und arterielles Blut nähern sich übereinstimmend einer Konzentration von 0, 3 - 0, 5 g%. Ähnlich wie nach Allotransplantation in den ersten Tagen Höchstwerte von allogenem Nierenprotein oder spezifischem Serumprotein im Urin und im Serum gefunden werden, scheint auch in der Xenotransplantation eine Ausschwemmung von Nierengewebe in der ersten Zeit der Abstoßungsreaktion besonders stark zu sein (2a, 2b, 4b, 35, 41b). Pathologische Läsionen am Tubulussystem, wie sie histologische Untersuchungen zeigen, unterstützen die Annahme, daß Histurie im xenogenen System vor allem eine Folge der Ischämie ist. Die Auftretende Histämie scheint neben der Ischämie ihren Grund auch im Zerfall der Endothelzellen von Kapillaren und Glomeruli zu haben. Transplantationshistämie im xenogenen System kann auch als Folge der Wirkung zytotoxischer Antikörper die mit Komplement einen zellzerstörenden Einfluß haben, interpretiert werden.

Eine hochgradige Proteinurie überdeckt die Histurie. Niedere Anfangswerte der Proteinurie coinzidieren mit Höchstwerten der venösen Histämie. Die Zerstörung der Basalmembran der Glomeruli und die damit verbundene nicht selektive Durchlässigkeit für Serumproteine bis zu Werten die für Serumkonzentrationen gelten, kann auf die zytotoxische Wirkung der präformierten natürlichen Antikörper zurückgeführt werden.

g. Enzyme, GOT, GPT und LDH im Verlauf der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion

Die Heftigkeit pathologischer Vorgänge am vaskularisierten Organ drücken sich häufig im Freiwerden von Enzymen aus. Auch im Falle von Abstoßungsreaktionen kommt es zu einem Anstieg von verschiedenen Enzymen im Serum der Patienten (3, 10, 66). Im xenogenen System werden extreme Werte von Transaminasen im Serum und im Urin beobachtet (26, 36). Dabei fällt die Abhängigkeit der Transaminasenaktivität zur Dauer der Hämoperfusion auf. Die Serumaktivitäten beginnen in der Regel nach 30 - 60 Minuten anzusteigen, sofern das Transplantat solange überlebt. Im Urin erscheinen von Anfang an höchste Werte. SGOT und SLDH im System Schwein-Hund zeigen eine Koinzidenz in Aktivität und Anstieg der Aktivität, während SGPT auch im System Schaf-Hund, entsprechend der Konzentration im Nierengewebe von geringer Bedeutung ist. In einem Einzelversuch konnte gezeigt werden, daß Schweinenieren etwa 44 E/g Frischgewicht in der Nierenrinde und 47 E SGOT im Mark enthalten. GPT weist 2,6 E/g in der Nierenrinde und 7 E/g im Mark auf. Dieses Verhältnis wurde auch in Rattennieren gefunden (105).

Bei akutem Nierenversagen liegt fast immer eine ischämische oder toxische Schädigung der Tubuluszellen vor, die mit einem Austritt der Enzyme ins Serum und sofern Urin produziert wird, in den Harn einhergeht. Beim Menschen ist es möglich mit Hilfe des Isoenzym-Musters einige Nierenversagen zu unterscheiden, während die Höhe der Enzymwerte nicht mit dem Ausmaß der Niereninsuffizienz, gemessen an der Retention harnpflichtiger Substanzen, übereinstimmt (50).

Enzymaktivitäten des Harns entstammen entweder dem Serum oder der Niere. Die Möglichkeit der glomerulären Filtration besteht nur bei Enzymen mit Molekulargewichten unter 70 000, ist also bei Transaminasen GOT M = 110 000 und GPT M = 180 000, auszuschließen (4a). Unter pathologischen Bedingungen, z. B. Hypoxie, treten Störungen des Zellstoffwechsels und damit der Membranfunktionen auf, es werden Zellfermente vermehrt in den Extrazellulärraum eingeschwemmt. Durch Störung der Membranpermeabilität gelangen sie in den Urin. Darüberhinaus erfolgt bei Proteinurie regelmäßig eine Ausschwemmung von Serumtransaminasen in den Urin (3).

Im Verlauf der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion treten sowohl zytotoxi-

sche Einwirkungen an den Zellen der Gefäße und Glomeruli, sowie Ischämie, insbesondere an den Tubulusepithelien, verbunden mit Proteinurie und Histurie, auf. Die Ansicht, daß es sich lediglich um eine Ausschwemmung zytoplasmatischer Enzyme handelt, widerspricht den Ergebnissen in denen die Transaminasen und LDH erst nach 30 Minuten ansteigen, zu einer Zeit also, in der alle anderen Zerfallerscheinungen im Rahmen der hyperakuten xenogenen Abstoßung ihren Höhepunkt bereits überschritten haben. Vielmehr zeigt der Austritt der Transaminasen eine Koinzidenz mit dem Sauerstoffverbrauch der Nieren. Während LDH, die nur locker an das Hyaloplasma gebunden ist, früher frei wird, steigt die Aktivität von GOT und in geringerem Maße GPT erst später an. Diese Enzyme lassen sich in 2 Gruppen unterteilen, solche die an Zytoplasma gebunden sind und solche, die in den Mitochondrien liegen. Die mitochondralen Anteile sind eng mit den Stoffwechselerscheinungen und der oxydativen Energiebereitstellung gekoppelt (43). Die Aktivitätszunahme der oben gemessenen Enzyme dürfte also in 2 Abläufen stattfinden: In der einfachen Ausschwemmung der zytoplasmatischen Enzyme im Ablauf der Zytolyse der hyperakuten xenogenen Abstoßung und später im Verlauf des Sauerstoffmangels, der sich besonders in den Mitochondrien bemerkbar macht und in einer Zerstörung der Struktur und einer Entkoppelung des Enzymmetabolismus deutlich wird.

Zu erwähnen bliebe noch der neueste Befund von Henson (41) der eine Freisetzung von 8 Enzymen bei der Antigen-Antikörper Reaktion gefunden hat.

Bei Ratten wird im Verlauf einer Antigen-Antikörper Reaktion durch Mithilfe von Komplement, IgG und IgA, ß-Glucuronidase aktiviert. Es handelt sich wahrscheinlich um einen aktiven Prozeß. ß-Glucuronidase tritt bei Abstoßungsreaktionen von Nierenallotransplantaten beim Menschen vermehrt im Urin auf (66).

h. Nierendurchblutung und Sauerstoffverbrauch während der hyperakuten, xenogenen Abstoßungsreaktion

Der Metabolismus xenogener Nieren während der Abstoßungsreaktion wurde noch nie genauer untersucht, da die rasche Abnahme und das frühzeitige Sistieren der Nierendurchblutung keine genauen Analysen in einem "steady state" erlauben. Die grundsätzlich unterschiedliche Art der xenogenen Abstoßung im weit entfernt ver-

wandten System, läßt auch keine allgemeine Übertragung der Befunde allogener Transplantatnieren zu. Es soll an dieser Stelle trotzdem versucht werden, einige der gemessenen physiologischen Parameter zu diskutieren (Abb. 11).
Die physiologische Durchblutung von 100 g Niere wird in der Literatur mit etwa 400 ml/Minute angegeben (59), eine Blutmenge, die im xenogenen System nie erreicht wurde. Im System Schwein-Hund lagen die Höchstwerte bei 65 ml/100 g x min, (15 %), bei den Schafnieren mit 80 ml/100 g x min (20 %). Allogene Nierentransplantate beim Menschen wiesen während der Abstoßungskrise ähnlich niedere Flow-Werte auf (68). Der Abfall des RBF in den xenogenen Nieren gestaltete sich je nach der Behandlung unterschiedlich. Die Heparinisierung der Empfängerhunde verhinderte eine Thrombosierung der Nierengefäße, so daß ein arterieller oder venöser Verschluß der Gefäße ausgeschlossen werden kann (15). Damit müssen andere Faktoren für die rasche Abnahme des RBF bei den Kontrollen diskutiert werden. Vasoaktive Substanzen, die von vielen Autoren beschrieben werden, scheinen auch hier beteiligt zu sein. An dieser Stelle soll die dadurch erzeugte Ischämie und ihre Folgen hervorgehoben werden.
Die in der Literatur beschriebenen mechanischen Veränderungen, die den RBF senken und dadurch die Abstoßung beschleunigen sind noch reine Spekulationen (25, 42, 44).
Daß humorale Faktoren die Abstoßungsreaktion auslösen, kann zwar als sicher gelten, ihre Aufgabe im xenogenen System ist jedoch noch unbekannt. Die Einwirkung von präformierten natürlichen Antikörpern in den ersten Minuten der relativ guten Perfusion reicht scheinbar aus, die Glomerulummembran für Proteine jeder Größe durchgängig zu machen, Histämie und Histurie zu erzeugen und wie aus histologischen Untersuchungen hervorgeht, auch die Gefäßendothelien anzugreifen. Damit wird die Möglichkeit ein interstitielles und intrazelluläres Ödem aufzubauen gegeben und gleichzeitig geformten Blutelementen, vor allem Erythrozyten, ein Austritt aus den Gefäßen ermöglicht. Intrazelluläre Komponenten wie K^+ und Transaminasen treten dagegen ins Blut ein. Thrombozyten, die durch Chemotaxis und Gefäßläsionen aktiviert werden, können zusammen mit immunologisch kompetenten Zellen die Gefäße weiter zerstören oder partiell verengen. Dabei scheinen in erster Linie Thrombozyten, weniger die polymorphkernigen Leukozyten und in

einem sehr geringen Maß nur die Lymphozyten beteiligt zu sein. Antigen-Antikörper Reaktionen verbunden mit der Komplementbeteiligung setzen Histamin frei und intensivieren die Reaktion weiter.

Die erste schwere Folge ist die Hypoxie. In mehreren Arbeiten wurde von Kramer und Thurau die Beziehung des O_2-Verbrauchs zur Durchblutung und zum Glomerulumfiltrat beschrieben (18, 59, 60, 122). Beim Abfall der arteriellen Durchblutung kommt es zu einem steileren Abfall der Durchblutung in der Rinde als im Mark. Auch der O_2-Sättigungsabfall des Blutes in der Rinde verläuft viel ausgeprägter als im Mark. Dabei wurde errechnet, daß die Rinde 9 cm^3/min/100 g Gewebe an Sauerstoff verbraucht, das Mark jedoch nur den 30. Teil davon. Es muß daraus geschlossen werden, daß der Sauerstoffabfall besonders die Rinde und damit die Glomeruli und deren Funktion schädigt.

Wenn die xenogene Niere nach wenigen Minuten der Hämoperfusion aufgeschnitten wird, zeigen sich schon makroskopisch massive Stauungen und Hämorrhagien im Mark-Rinden Bereich. Die langsame Markdurchblutung, bedingt durch die lange Passagezeit des Kapillargebietes und dessen ungewöhnlich lange Kapillarenstrekken, erlaubt einen ausgiebigen Kontakt von Blutbestandteilen mit den Endothelien dieser Gefäße. In Folge der Eindickung des Blutes im Gegenstromprinzip wird dazu noch die Viskosität erhöht. Es entsteht damit ein besonders günstiger Angriffspunkt für immunologische und nicht immunologische Faktoren.

Im xenogenen System können für diese Mechanismen nur die ersten Minuten in Frage kommen, da nach kurzer Zeit die immunologischen Faktoren ihre Zerstörung bereits begonnen haben. Entweder die 19 s IgM Moleküle, die als die Globulingruppe angesehen wird, in der die zytotoxischen, präformierten natürlichen Antikörper liegen, haben zusammen mit Komplement die Zellmembranen so zerstört, daß keine Membranpotentiale mehr aufgebaut werden können und damit der Ionenaustausch nicht mehr stattfinden kann, oder sie haben in einer dichten Schicht die Membran abgedeckt, daß der Sauerstofftransport erschwert oder überhaupt nicht mehr stattfinden kann. Auch dadurch tritt Hypoxie ein. In beiden Fällen könnte das Glomerulumfiltrat nicht mehr konzentriert werden. Der Urin entspricht in allen Versuchen etwa der Serumkonzentration der verglichenen Parameter wie z. B. Na^+, K^+, Osmolarität und Protein.

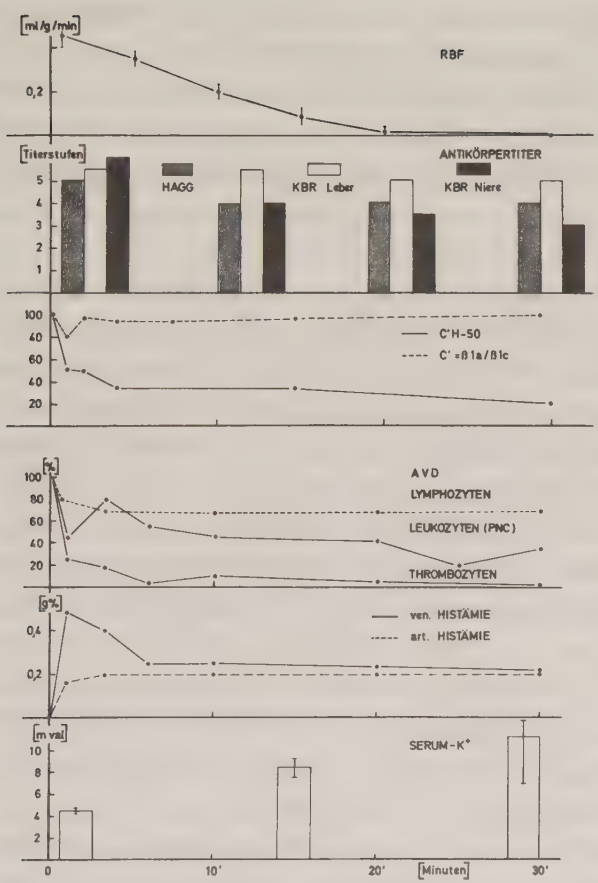


Abb. 11 Verhalten einiger wichtiger Parameter bei der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion, verglichen zum renalen Blut-Fluß, bei unbehandelten Kontrollhunden.

Die Nierenrinde benötigt 8 - 9 ml Sauerstoff pro Minute und 100 Gramm, das Mark nur 0,34 ml/min/100 g. Diese Zahlen überschreiten bei weitem das Angebot der xenogenen Hämoperfusion. Nach 10minütiger Perfusion wurden die höchsten Werte mit 4,5 ml/min/100 g gemessen. In den Gruppen ohne Behandlung und in den immunisierten Hunden fielen die Werte rasch auf 0,5 ml ab. Diese Kurve entsteht vor allem durch den Verlauf des RBF. Andererseits nimmt die AVD-O_2 im umgekehrten Verhältnis zu. Eine Ausnützung des Blutsauerstoffes um mehr als 50 % scheint in den xenogenen Nieren nicht möglich zu sein. Damit wäre die Hypoxie allein abhängig vom RBF, der durch seinen extremen Abfall in den ersten Minuten auch bei einer AVD-O_2 von über 50 %, eine genügende Versorgung mit Sauerstoff unmöglich macht.

Der größte Teil des von der Niere aufgenommenen Sauerstoffs wird zur Na^+-Rückresorption verbraucht. Es wurde jedoch errechnet, daß allein zur Erhaltung der Organstruktur 2,6 ml O_2 pro 100 g Niere verbraucht wird (122). Selten und kurzzeitig werden diese Werte im xenogenen System Schwein-Hund erreicht. Die Konzentration des Glomerulumfiltrates und eine Na^+-Rückresorption kann somit von vornherein ausgeschlossen werden. Trotzdem produzieren die Nieren solange sie durchblutet werden Urin. VonAnfang an liegt eine massive Proteinurie vor. Niemals konnte konzentrierter Urin festgestellt werden. Die ausgeschiedene Menge liegt in einzelnen Fällen mit 0,3 ml/min und 100 g Niere nahe der unteren Grenze gesunder Nieren (6, 31, 115). Allerdings werden diese Mengen zu einem Zeitpunkt ausgeschieden, an dem der RBF und der Sauerstoffverbrauch auf extrem niedere Werte gefallen sind. Im System Schwein-Hund und Schaf-Hund kommt eine Urinausscheidung also erst in Gang, nachdem die erste, humorale Phase der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion abgelaufen ist.

Auf zellulärer Ebene führt die Hypoxie und die damit verbundene Störung des Zellmetabolismus zu einer Zellschwellung, als Folge eines intrazellulären Ödems (25). Die Beibehaltung des Zellvolumens ist ein aktiver, energieverbrauchender Prozeß, der von einem intakten Metabolismus abhängt. Eine Hypoxie, durch welche Ursache auch entstanden, ist daher von sich aus in der Lage, über einen gestörten Metabolismus, eine Zellschwellung herbeizuführen. Dabei handelt es sich um ein für die Abstoßungsreaktion unspezifisches Phänomen. Dieses zelluläre Ödem,

bzw. der Gewebedruck scheinen jedoch ein kausaler Faktor in der Regulation des RBF und des Gefäßwiderstandes in einer isolierten Niere zu sein (25) und ist auch für eine mechanische Behinderung der Nierendurchblutung verantwortlich zu machen.

Mit der Zerstörung von Zellen im Laufe der Hypoxie oder der Abstoßung, treten weitere Faktoren auf, die auf den RBF Einfluß nehmen. So ist bekannt, daß K^+, sobald 3 - 8 mEq/l überschritten werden den Gefäßwiderstand von Hundenieren und die Urinproduktion steigern (114). Diese K^+-Werte sind im System Schwein-Hund und Schaf-Hund nach spätestens 30 Minuten also am Schluß des Abfalls des RBF erreicht.

Die Vasokonstriktion im xenogenen System kann somit auf eine Reihe von Faktoren zurückgeführt werden, die von der Ischämie und damit verbunden einer Hypoxie ausgelöst werden. In isolierten Nieren (31), sowie in Allotransplantaten (44) konnte festgestellt werden, daß nach Ausschaltung aller bekannten neurogenen und metabolischen Faktoren immer noch Substanzen vorhanden sein müssen, die eine Vasokonstriktion bedingen. In eigenen Untersuchungen konnte ebenfalls ein vasoaktives System gefunden werden (81) (siehe Seite 50) bei dem es sich jedoch weder um Histamin oder Serotonin, noch um Anaphylotxin handeln kann (112). Auch Kinine und ATP scheinen nicht die auslösenden Mechanismen der Vasokonstriktion bei der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion zu sein. Untersuchungen deuten darauf hin, daß ein dynamisches Prinzip zu Grunde liegt.

i. Enhancement und seine Wirkung auf die hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion

Die erfolgreiche Verlängerung der Überlebenszeit von Transplantaten nach Vorbehandlung der Empfänger mit antigenem Material, wird allgemein als "Enhancement" bezeichnet. Ursprünglich galt der Begriff des Enhancement nur für das gesteigerte Wachstum von Tumoren nach Behandlung des Tumorträgers mit Antigen oder Antikörper und wurde auch vorwiegend an Tumortransplantaten erforscht (47). Erst vor kurzer Zeit fand man, daß im allogenen System auch andere transplantierte Gewebe, wie Herz (51) und Haut (13, 14, 16, 78, 129) unter dem Effekt einer aktiven und passiven Immunisierung paradoxerweise länger überleben. An dieser Stelle soll nur auf die Ergebnisse von Nierentransplantaten in allogenen und xenogenen

Systemen bei aktivem und passivem Enhancement eingegangen werden.
Das immunologische Enhancement muß von einigen anderen Phänomenen unterschieden werden, die ebenfalls eine Veränderung der Immunitätslage unter Vorbehandlung mit Antigen darstellen, nämlich die Immunparalyse und die Immuntoleranz. Der Unterschied besteht darin, daß Enhancement immer mit der Wirkung von Antikörpern einhergeht, die gegen das spezifische Antigen gerichtet sind und daß eine Abstoßungsreaktion nicht vollständig aufgehoben, sondern lediglich modifiziert wird. Diese enhancing Antikörper können aktiv im Empfänger erzeugt werden, wobei die Art des Antigens, z. B. lebende Zellen tote Zellen oder lösliches Protein, sowie die Organherkunft und der Weg der Applikation von Bedeutung sind. Diese Art wird als "aktives Enhancement" oder "aktives Pretreatement" bezeichnet.
Werden Serum oder γ-Globuline oder Fraktionen daraus, auf den potentiellen Empfänger übertragen, so spricht man von "passivem Enhancement" oder "passive Conditioning". Hierbei spielen nicht nur Art der Applikation, Art des Antigens und die Serumtiter eine Rolle, sondern auch die Aufbereitung des gewonnenen Serums und die Zeit der Übertragung im Verhältnis zum Transplantationsbeginn. Trotz reicher Literatur kann noch kein einheitliches Immunisierungsschema empfohlen werden (47). Über die Effektivität des Antigens herrscht noch Unklarheit. Während von einigen Autoren lebende Zellen und Transplantate zur Immunisierung verwandt werden (33, 73, 93, 94) nützen andere lösliche Zellproteine, Zellfragmente oder tote Zellen ur Immunisierung (12, 96, 126, 129). Die Organspezifität des Antigens scheint weniger bedeutend zu sein, obwohl es auch hier unterschiedliche Auffassungen gibt. Abhängig von der Art des Transplantates werden bestimmte Antigene bevorzugt.
Von großer Wichtigkeit sind Art und Dauer der Applikation. Erst nach 21 Tagen Immunisierung treten transplantatverlängernde Wirkungen in den Seren auf. Werden die Antikörper mit Hilfe von Freund'schem Adjuvans provoziert, so scheinen zytotoxische 19 s Antikörper zumindest in der ersten Zeit vorzuherrschen. Das Überwechseln zur Produktion der 7 s Antikörper denen die enhancing Antikörper zugeordnet werden, findet später statt. Es kann gesagt werden, daß aktives Enhancement weniger übereinstimmende Ergebnisse zeigt, als das passive Konditio-

nieren der Tiere, ein Moment, das mit der exakteren Dosierungsmöglichkeit der enhancing Antikörper zusammenhängen dürfte.

Die passive Übertragung der enhancing Antikörper läßt eine weitgehende Differenzierung zu (24, 28, 38, 120). So gelingt es allein mit y-Globulin (103) eine Transplantatverlängerung zu erreichen, wobei die aktive Komponente des y-Globulins bei weiterer Spaltung und Auftrennung dem Fab-Fragment zugeschrieben werden kann (17). Das zytophile Fab-Fragment besitzt blockierende Eigenschaften, während Fc, die komplementbindende und damit zytotoxische Seite des y-Globulin Moleküls darstellt und eine beschleunigte Organabstoßung hervorrufen kann. Die Dichte der Antigendeterminanten auf der Zelloberfläche ist für diese Angabe sehr wichtig (71). Je größer die Dichte der zu besetzenden Antigene einer Zelle ist, umso mehr Antikörper werden aktiviert. Die IgG-Antikörper, zu denen die enhancing Antikörper gerechnet werden, benötigen 2 Antigensitze um zu reagieren, während IgM Moleküle, zu denen die präformierten Antikörper wahrscheinlich gehören, nur einen Antigensitz für ihren zytotoxischen Angriff brauchen.

In Versuchen konnte gezeigt werden, daß enhancing Antikörper der IgG-Klasse eine Bindung von zytotoxischen IgM-Antikörpern an Erythrozyten verhindern können, wenn sie in genügender Menge angeboten werden. Mit dem Grad der Abnahme bzw. der Verdünnung der IgG-Antikörper kommt es zunehmend zur Hämolyse. IgM-Antikörper, die nun die freigegebenen Antigensitze erreichen werden dafür verantwortlich gemacht (2). Es scheint sich bei dieser Art des Enhancement um eine sterische Hinderung der IgM-Antikörper am Antigen-lokus zu handeln. Aus diesem Grund ist der Zeitpunkt der Transplantation im Verhältnis zur Konditionierung des Empfängers von Bedeutung. Mit xenogenen Seren kommt deutlicher zum Ausdruck, daß die Applikation vor der Transplantation weit besser wirkt als nachher und daß nach relativ kurzer Zeit die fremden Globuline aus dem Empfänger entfernt werden. Auch enhancing Antikörper, die bereits die Antigendeterminante besetzt haben, werden relativ schnell wieder von den Organen abgeschwemmt (2). Werden mit Antikörpern beladene Zellen bei $4^{o}C$ gewaschen, so werden nur geringe Antikörpermengen im Eluat nachgewiesen. Eluiert man bei $37^{o}C$, so sind nach 6 Stunden bereits 80 % der Antikörper von den Zellen abgewaschen (2). Dieser Mechanismus unterstützt die Annahme, daß die 7 s Antikörper eine höhere Avidität besitzen als die zytotoxischen 19 s Antikörper oder präformierten Antikörper der

IgM-Klasse. Nach einer gewissen Zeit erst, werden die Antigendeterminanten für die destruktive Wirkung der zytotoxischen Antikörper zugänglich, nachdem die enhancing Antikörper diese freigegeben haben.

Die seither beschriebenen Reaktionen können alle in den oben beschriebenen Formenkreis des Enhancement übernommen und in die verschiedenen Arbeitshypothesen eingereiht werden (2, 47, 54).

Im Prinzip der "afferenten Inhibition" postuliert man einen Vorgang, der an der Zelloberfläche stattfindet. Die enhancing-Antikörper besetzen die Antigendeterminanten und blockieren diese für weitere Reaktionen. Damit ist die Erkennung durch zytotoxische Antikörper oder Effektorzellen des Empfängers ausgeschlossen. In diesem System müssen große Mengen von Antikörpern angeboten werden (high dose enhancement) um die Antigene vollständig zu besetzen. Auch mit geringen Dosen von Antikörpern kann eine Verlängerung der Überlebenszeit erreicht werden (minute dose enhancement). Der Mechanismus dabei ist noch ungeklärt (38).

Die "efferente Inhibition" so scheint es, findet auch an der Targetzelle selbst statt. Dabei werden die Antigenrezeptoren blockiert und die Zelloberfläche derart mit Antikörpern belegt, daß dem Lymphozyten eine Anlagerung nicht mehr möglich ist.

Die dritte Theorie, die "centrale Inhibition" ist noch nicht beweisend mit Versuchen belegt. Medawar nimmt auf Grund seiner Versuche an, daß Antikörper entweder extra- oder intrazellulär mit dem Antigen reagieren und dadurch eine Sensibilisierung der immunkompetenten Zellen verhindern. Eine weitere Theorie, daß der Antikörper eine Veränderung des Zellmetabolismus hervorruft und damit ein Transplantatwachstum im Sinne eines Enhancement erlaubt, kann höchstens im Falle des Tumor-Enhancement aufgestellt werden.

Diese Arbeitshypothesen, die auf Nierenallotransplantate bei Ratten (28, 93, 94), Hunden (33, 34, 73, 120, 129) und Schweinen (103) übertragen wurden, scheinen vom Verwandtschaftsgrad der Spender und Empfänger abzuhängen. So überlebten Inzuchtratten, die sich nur in wenigen Histkompatibilitätsantigenen unterscheiden länger, als in Systemen mit einer höheren Kompatibilitätsschranke (93, 94). Die Heterogenität der Hundpopulationen die zu Nierentransplantationen verwandt wurden, macht verständlich, daß Verlängerungen in diesem System weniger signifikant waren.

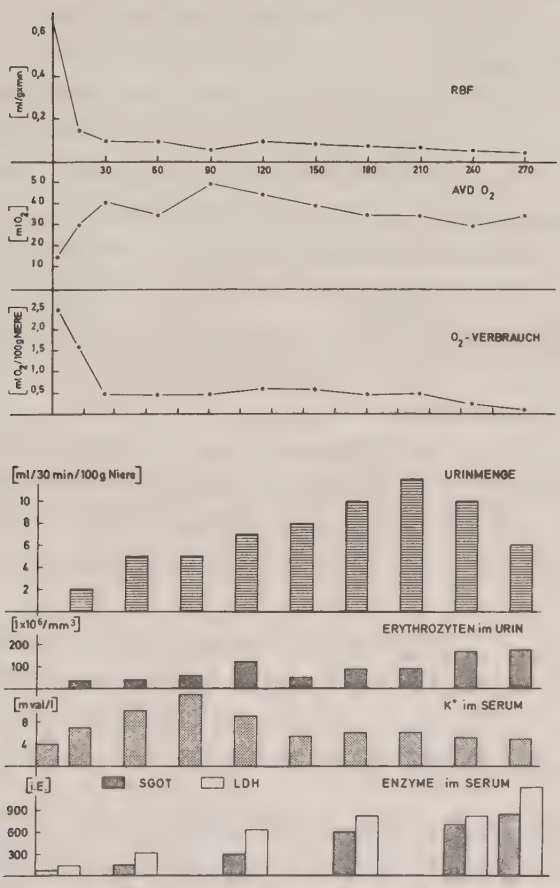


Abb. 12 Verhalten einiger wichtiger Parameter bei der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion, verglichen zum renalen Blut-Fluß, bei mit löslichem Schweineleberantigen vorbehandelten Hunden.

Lebertransplantationen beim Schwein, nach Vorbehandlung mit Blut, wie sie von Calne (11) beschrieben wurden, erreichten sehr gute Überlebenszeiten. Die extreme Inzucht der heute gebräuchlichen Schweinepopulationen läßt vermuten, daß auch hier sehr geringe Kompatibilitätsunterschiede bestehen. Untersuchungen über den Wirkungsgrad des Enhancement im xenogenen System wurden nur wenige durchgeführt. Dabei handelt es sich meist um nah verwandte Tierarten. Owen (97) beschrieb Nierentransplantationen innerhalb einer zoologischen Ordnung, aber außerhalb der Familie. Nieren von Meerschweinchen wurden auf Kaninchen transplantiert. Die Kontrollen überlebten nur 24 Stunden. Wurde nach einem Schema konditioniert, das dem unserigen gleicht, so erreichten die Nieren Funktionszeiten bis zu 25 Tagen. Perper transplantierte Nieren zwischen Tieren einer zoologischen Ordnung und zwei sehr eng verwandten Familien, Schaf und Ziege (101). Die Überlebenszeit der Transplantate entsprach fast der Zeit von Allotransplantaten. Nach Transfer eines "organspezifischen Enhancing-Serums", kam es zu einer beschleunigten Abstoßung der Nieren.

In verschiedenen Versuchen konnte gezeigt werden, daß Retransplantationen nach Abstoßung eines Organs, dessen Abstoßungsreaktion durch Enhancement modifiziert worden war, akut oder hyperakut abgestoßen wurden. Es wäre möglich, daß nach Sensibilisierung mit spezifischem Antigen ein Enhancement nicht aufrecht erhalten werden kann.

In eigenen Versuchen konnte beobachtet werden, daß Nierenzweittransplantate entsprechend den Kontrollen oder noch schneller abgestoßen wurden, obwohl das Immunisierungsschema entsprechend der Zeit vor der ersten Transplantation weitergeführt worden war (Abb. 13).

Untersuchungen über die Effektivität von Enhancement an entfernt verwandten Tierarten, Schwein-Hund und Schaf-Hund wurden in dieser Arbeit beschrieben. Im System Schaf-Hund wurde über eine extrem lange Zeit von einem Jahr Gesamtleberhomogenat mit komplettem Freund'schen Adjuvans injiziert. Durch die Immunisierung wurden zusätzlich zu den präformierten Antikörpern heterophile Antikörper provoziert. Ex-vivo Perfusionen von Schafnieren an diesen immunisierten Hunden führte zu einer leichten Verlängerung der Überlebenszeit.

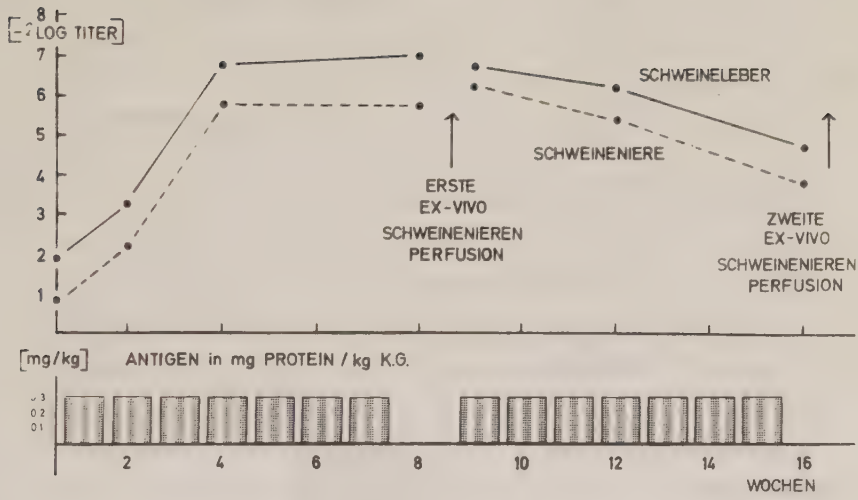


Abb. 13 Verhalten von komplementbindenden Antikörpern im Laufe der Antigenvorbehandlung mit löslichem Schweineleberantigen. Innerhalb von 16 Wochen wurden 2 Ex-vivo Perfusionen von Schweinenieren durchgeführt.

Im System Schwein-Hund wurde kurzzeitig, ohne Freund'sches Adjuvans mit löslichem Leberprotein vorbehandelt.

Die hämoperfundierten Nieren wiesen eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit auf.

In beiden Systemen wurde allogenes, nicht organspezifisches Enhancement-Serum auf unbehandelte Empfänger übertragen. Durch diese Konditionierung wurden die Überlebenszeiten mehr verlängert, als dies mit aktivem Enhancement möglich war. Ohne weitere Vorbehandlung dieser Hunde, wurde nach 6 Wochen erneut eine Niere perfundiert. Die Abstoßungszeit entsprach Kontrollwerten. Es muß angenommen werden, daß nach 6 Wochen alle Enhancing Antikörper eliminiert oder partiell absorbiert waren, so daß der übliche Modus der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion ablaufen konnte (Abb. 14).

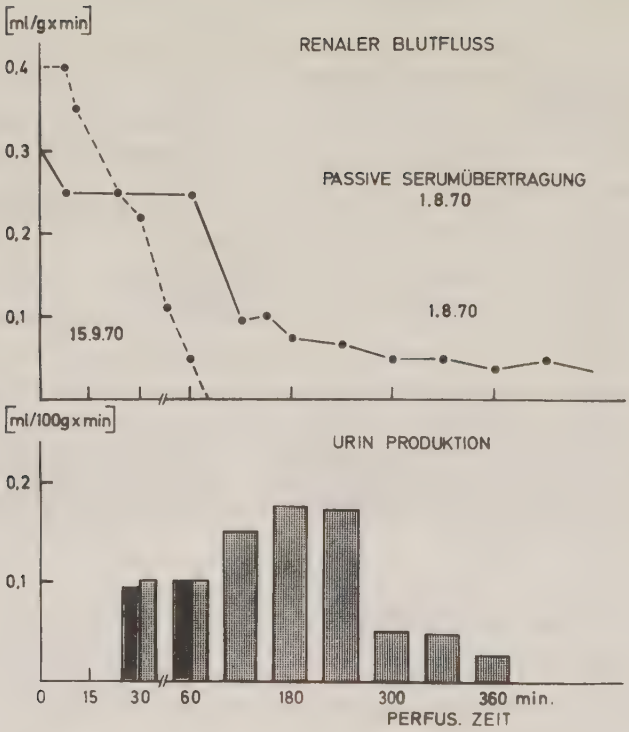


Abb. 14 Verhalten des RBF und der Urinproduktion von Schweinenieren nach Vorbehandlung mit Enhancement-Serum (1. 8. 1970) und 6 Wochen später (15. 9. 1970).

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß es sich bei dieser Konditionierung um den Modus des "high dose enhancement" vom efferenten Typ handeln muß. Die Immunisierung mit Organhomogenat und Freund'schen Adjuvans über ein Jahr garantiert einen "switch" der Antikörper bildenden Zellen vom Typ der 19 s Antikörper zu 7 s Antikörpern. Die Vorbehandlung über 6 Wochen mit löslichem Schweineleberprotein ohne Freund'sches Adjuvans läßt eine ähnliche Antikörperpopulation erwarten. Wie oben beschrieben, kann auch im xenogenen System an Organen angenommen werden, daß diese 7 s Antikörper die Antigendeterminanten vorüber-

gehend blockieren und den Angriff der zytotoxischen Antikörper wenigstens in der ersten Zeit abschwächen.
Trotz des Antikörperüberschusses scheinen nicht alle Antigendeterminanten besetzt zu sein, so daß durch zytotoxische Antikörper von Anfang an eine Zytolyse möglich ist. Die Ablösung der blockierenden Antikörper vom Antigenlokus, gefolgt von einem Angriff weiterer zytotoxischer Antikörper, führt zu dem zeitlich begrenzten Aufschub der Abstoßungsreaktion.
Trotz dieser Ergebnisse darf nicht übersehen werden, daß mit Beginn der Hämoperfusion eine fulminante, das Präparat zerstörende Reaktion eintrat. Histämie, Histurie, Proteinurie und Hämaturie sowie der Anstieg intrazellulärer Enzyme und Elektrolyte im Serum beweisen die starke Schädigung der Nierenzellen.

Dekomplementierung (79, 84, 113, 116), Plasmaphorese (80, 86), Antikörperabsorption an Organen (103) und Desensibilisierung (86) brachten gegenüber dem Enhancement keine weitere Verlängerung der Überlebenszeiten im xenogenen System. Durch extreme isovolämische Hämodilution (37, 81) verbunden mit Lymphdrainage gelang es zwar, den RBF von Schweinenieren bis zu 18 Stunden aufrecht zu erhalten, doch waren hier sämtliche immunologischen Vorgänge mangels immunkompetenter Zellen und Antikörper abgeschwächt oder ausgeschaltet.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Der Mechanismus der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion in zoologisch entfernt verwandten Tierarten: Schwein-Hund und Schaf-Hund und deren Beeinflußbarkeit wurden untersucht.

2. Zelluläre Blutbestandteile wie Thrombozyten, Granulozyten und Lymphozyten, sowie humorale Anteile wie Komplement und Antikörper nehmen an der Reaktion teil. Die Beeinflussung dieser Faktoren findet besonders in den ersten Minuten der Abstoßung statt.

3. Die Wirkung der Antikörper, insbesondere der präformierten natürlichen Antikörper auf die Oberflächenantigene der Nierenzellen kommt zum Ausdruck im Freiwerden von Zellenzymen, intrazellulärem Kalium sowie einer Proteinurie, Histurie und Histämie in Kontroll- und Versuchsgruppen.

4. Immunisierung der Empfänger mit Leberantigen vom Spender zusammen mit Freund'schem Adjuvans im System Schaf-Hund und ohne Freund'sches Adjuvans im System Schwein-Hund verlängerte bei Ex-vivo Perfusion die Überlebenszeit der Nieren und verbesserte den renalen Blutfluß. Die Immunisierung der Empfänger führte zu einer Provozierung von komplementbindenden und hämagglutinierenden Antikörpern, die die Werte der präformierten Antikörper dieser Klassen übersteigen.

5. Der verzögerte Abfall des RBF, die in Gang kommende Urinproduktion und die anfangs schwächere Ausschwemmung von Enzymen und Kalium in den Nieren, die durch immunisierte Tiere perfundiert wurden, läßt vermuten, daß xenogene "enhancing" Antikörper in der Lage sind, wenigstens anfänglich die Zelloberflächenantigene zu blockieren und so vor dem Einwirken zytotoxischer Antikörper zu schützen.

6. Übertragung von Hyperimmunseren auf unbehandelte Hunde führte zu gleichen Ergebnissen und stützt die Annahme, daß antigen-maskierende Antikörper die Ursache der Verlängerung der Überlebenszeit der Transplantate sein dürften.

F. LITERATURNACHWEISE

1	ADA, G.L., ASKONAS, C.R., PARISH, G.J.V., and NOSSAL, A.:	The tissue localisation, immunogenic and tolerance inducing properties of antigens and antigen fragments. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 32: 381 (1967)
2 a	AMOS, D.B., COHEN, J., and KLEIN, W.J.:	Mechanism of immunologic enhancement. Transplant. Proc. 2: 68 (1970)
2 b	ANTOINE, B., NEVEU, T., LESLKI, M., and BACH, J.F.:	Histuria during renal transplantation. Transplantation 8: 110 (1969)
2 c	ANTOINE, B., NEVEU, T., and DORRINGTON WARD P.:	Fibrinuria during renal transplantation. Transplantation 8: 98 (1969)
3	BACHMANN, C., and LARGIADER, F.:	Serum Enzymes during Cardiac Allograft Rejection. Z. ges. exp. Med. 153: 162 (1970)
4 a	BAYLISS, L.E., KERRIDGE, P.M.T., and RUSSEL, D.S.:	The excretion of protein by the mamalian kidney. J. Physiol. (Lond) 70: 386 (1933)
4 b	BALTZAN, R.B., and BALTZAN, M.A.:	Late Failure in Cadaveric Renal Allografts. Canad. med. Ass. J. 101: 552 (1969)
5 a	BECKER, E.L.:	The relation of complement to the other systems. Proc. Roy. Soc. B. 173: 383 (1969)
5 b	BITTER-SUERMANN, D., DIERICH, M., HADDING, U., und KÖNIG, W.:	Die Bypass-Reaktionen der C3-Aktivierung: Ein neues Konzept von der biologischen Bedeutung des Komplementsystems. 3. Tagung der Gesellschaft für Immunologie Marburg 11. - 13. Oktober 1971
6	BOUNOUS, G., SHUMAKER, H.B., and KING, H.:	Studies in renal blood flow. Ann. Surg. 151: 47 (1960)

7 BRECHER, G., and CRONKITE, E. P.: Morphology and Ennummeration of human blood-platelets. J. appl. Physiol. 3: 365 (1950)

8 BRENDEL, W., HECK, L., CHAUSSY, CH., HAMMER, C., SCHEDER, D., und BONENGEL, H.: Bedeutung präformierter natürlicher "cross-spezies"-Antikörper für die Überlebenszeiten und Möglichkeiten xenogener Organtransplantate. 3. Tagung der Gesellschaft für Immunologie Marburg 11. - 13. Oktober 1971

9 BROWN, D. L.: Acute complement-mediated hemolysis in the rabbit: Relationship between thrombocytopenia and neutropenia and complement consumption. Brit. J. Haematol. 19: 499 (1970)

10 BURLINGTON, H., HOLLOWAY, S., STEWART, W. W., and NATHAN, P.: Alterations in glomerular and tubular enzyme activity in dog kidney allografts. Transplantation 5: 1248 (1967)

11 CALNE, R. Y., WHITE, H. J. C., HERBERTSON, B. M., MILLARD, P. R., DAVIS, O. R., SALAMAN, J. R., SAMUEL, J. R.: Pig to baboon liver xenografts. Lancet I, 1176 (1968)

12 CALNE, R. Y., DAVIS, D. R., HADJIANNAKIS, E., SELLS, R. A., WHITE, D.: Immunosuppressive effect of soluble cell membrane frations, donor blood and serum on renal allograft survival. Nature 227: 903 (1970)

13 CEPPELLINI, R., BIGLIANI, S., CURTONI, E. S., and LEIGHEB, G.: Experimental allotransplantation in man: II. Transplant. Proc. 1: 390 (1969)

14 CHUTNA, J.: The mechanism of immunological enhancement of H-2 incompatible skin grafts in mice. Transplant. 12: 28 (1971)

15 CLYNE, D.H., KINCAIS-SMITH, P., RIBUSH, N.B., MORRIS, P.J., and MARSHALL, V.C.:
Improvement in renal blood flow of rejecting renal allografts during heparin infusion. Med. J. Australia 1: 522 (1970)

16 COHEN, I., BRAUTBAR, H., and NELKEN, D.:
Passive immunological enhancement of skin allografts in rats. Transplant. 11: 135 (1971)

17 CRUSE, J.M., FROBES, J.T., GILLESPIE, G.Y., and LEWIS, G.K.:
Immunologic enhancement induced by antibody fragments. Z. Immunitätsforsch., Allerg., klin. Immunol. 140: 259 (1970)

18 DEETJEN, P., und KRAMER, K.:
Die Abhängigkeit des O_2-Verbrauchs der Niere von der Na-Rückresorption. Pflügers Arch. 273: 636 (1961)

19 DENNIS, R.A., JACOBY, R.O., GRIESEMER, R.A.:
Developement of immunity in fetal dogs. Skin allograft rejection. Am. J. Vet. Res. 30: 1511 (1969)

20 DE WITT, C.W.:
Immunologic aspects of cross-spezeie Transplantation I. Transplant. Proc. 2: 468 (1970)

21 DOBIAS, G., BALAZS, M.:
Studies on the pathogeneic role of humoral antibodies reacting with subcellular organ antigens. I. Active immunisation of rabbits with rat-organ antigens. Immunology 12: 373 (1967)

22 DRAPER, L.D., and OWENS, J.R.:
The titer and avidity of natural antisheep hemolysins in X-radiated rabbits. J. Immunol. 99: 142 (1967)

23 DUBERNARD, J.M., BONNEAU, M., BOMEL, J., MONTAGARD, J., BLITZ, M. LATOUR, M., BLANC-BRUNAT, N., BROCHARD, J.C., BANSILLON, V., BANSILLON, G., and CAPODICASA, G.:
Renal and skin xenografts from baboon to macaques: Effect of ALG. Transplant. Proc. 3: 545 (1971)

24	EMMERLING, P., und FINGER, H.:	Über die Wirkungsweise passiv applizierter Antikörper. Z. Immun.-Forsch. 142: 183 (1971)
25	ENERSON, D.M.:	Cellular swelling: Hypothermia graded hypoxia and the osmotic effect of low molecular dextran on isolated tissues. Ann. Surg. 163: 169 (1966)
26	FIEDLER, L.:	Verzögerung der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion an der extrakorporal perfundierten Schweineniere im Schwein-Hund System. Diss. München 1971
27	FOKER, J.E., CLARK, D.S., PICKERING, R.J., GOOD, R.A., and VARCO, R.L.:	Studies on the mechanism of canine renal allograft rejection. Transplant. Proc. 1: 296 (1969)
28	FRENCH, M.E., BATCHLOR, J. R., and WATTS, H.G.:	The capacity from rats baring enhanced kidney-allografts to mount graft versus host reactions. Transplant. 12:45 (1971)
29	GILES, G.R., BOEHMIG, H.J., LILLY, J., ANEMIYA, H., TAKAGI, H., COBURG, A.J., HATHAWAY, W.E., WILSON, B., DIXON, F.J., and STARZL, T.E.:	Mechanism and modification of rejection of heterografts between divergent spezies. Transplant. Proc. 2: 522 (1970)
30	HADDY, F.J., SCOTT, J., FLEISHMAN, M., and EMANUEL, D.:	Effect of change in renal venous pressure upon vascular resistance, urine and lymph-flow rates. Am. J. Physiol. 195: 97 (1958)
31	HADDY, F.J., FLEISHMAN, M., and EMANUEL, D.:	Effect of change in flow rate upon renal vascular resistance. Am. J. Physiol. 195: 111 (1958)

32 HAGL, S., GECK, G., BRENDEL, W., LAND, W., MAYR, N., MENDLER, N., PIELSTICKER, K., und SEBENING, F.:
Xenogene Herztransplantation im nah stammesverwandten Speziessystem Fuchs-Hund. D. med. Wschr. 296: 217 (1971)

33 HALASZ, N. A., ORLOFF, M. J., and HIROSE, F.:
Increased survival of renal homografts in dogs after injection of graft donor blood. Transplant. 2: 453 (1964)

34 HALASZ, N.A., and ORLOFF, M.J.:
Different effects of antigen treatment on allogeneic skin and organ transplants. Transplant. 2: 547 (1964)

35 HAMMER, C., MERZEL, D., PIELSTICKER, K., LAND, W., und BRENDEL, W.:
In-vivo Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion von Nierentransplantaten im Schwein-Hund System.
2. Tagung der Gesellschaft für Immunologie, Wien 1970

36 HAMMER, C., FIEDLER, L., KLÖVEKORN, W.P., LAND, W., MESSMER, K., und BRENDEL, W.:
Mitigation of the hyperacute xenogeneic rejection of kidneys in widely divergent species.
Europ. Surg. Res. 2: 112 (1970)

37 HAMMER, C., MERZEL, D., KLÖVEKORN, W.P., MESSMER, K., LAND, W., und BRENDEL, W.:
Modifikation der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion.
1. Arbeitstagung Sektion expt. Chirurgie Salzburg, November 1971

38 HAUGHTON, G., and ADAMS, D.O.:
Specific immunosuppression by minute doses of passive antibody. II. The site of action.
J. Rethic. Soc. 7: 500 (1970)

39 HEGE, J.S., and COLE, L.J.:
Antibody plaque-forming cells in unsensitized mice.
J. Immunol. 99: 61 (1967)

40 HENSON, P.M.: Release of vasoactive amines from rabbit platelets induced by sensitized mononuclear leucocytes and antigen. J. exp. Med. 131: 287 (1970)

41 HENSON, P.M.: Release of biologically active constituents from blood cells and its role in antibody-mediated tissue injury. Progress in Immunology, 156 (1971). 1. st internat. Congress of Immunology. Editor: B. AMOS

41 a HERMANN, G., ZÜHLKE, V., and FAUL, P.: Gamma globulin fragments in urine of kidney transplant patients in relation to rejection crisis. Europ. Surg. Res. 2: 55 (1970)

42 HINSHAW, L.B., DAY, S.B., and CARLSON, C.H.: Tissue pressure as a causal factor in the isolated perfused kidney. Am. J. Physiol. 197: 309 (1959)

43 HÖHMANN, B., ZWIEBEL, R., YAMAGATA, A., and KINNE, R.: Enzymaktivitäten im isolierten proximalen tubulus der Kaninchenniere. Pflügers Arch. 312: 110 (1969)

44 HOLLENBERG, N.K., RETIK, A.B., ROSEN, S.M., MURREY, J.E., and MERRILL, J.P.: The role of vasoconstriction in the ishemia of renal allograft rejection. Transplant. 6: 59 (1968)

45 HUBER, H., and DOUGLAS, S.D.: Receptor sites on human monocytes for complement: Binding of red cells sensitized by cold autoantibodies. Brit. J. Haematol. 19: 19 (1970)

46 HUME, D.M.: Kidney transplantation. Human Transplantation, Rapaport-Dausset, Grune & Stratton, Inc. 1968

47 HUTCHIN, P.: Mechanism and function of immunologic enhancement. Surg. Gyn. Obstet. 126: 1331 (1968)

48 IVANYI, J.: Cytophilic antibodies in passive antibody induced immune suppression or enhancement. Nature 226: 550 (1970)

49 JABOULAY, M.: Greffe de rein au pli du conde par sondures arterielles et veneuses. Lyon med. 107: 575 (1906)

50 JAHNECKE, J., LÖFFLER, G., MEISCH, M., and STREICHER, E.: Beitrag zur Pathogenese des akuten Nierenversagens. Kli. Wo. 45: 466 (1967)

51 JENKINS, A. M., and WOODRUFF, M. F. A.: The effect of prior administration of donor-strain blood or blood constituens on the survival of cardiac allografts in rats. Transplant. 12: 57 (1971)

52 JENSEN, J. A.: A specific inactivator of mammalian C 4, isolated from nurse shark serum. J. exp. Med. 130: 217 (1969)

53 KABAT, E., & MAYER, M.: Experimental Immunochemistry. 2. Edition, Ch. Thomas, Springfield, III, 1961

54 KALISS, N.: Dynamics of immunologic enhancement. Transplant. Proc. 2: 59 (1970)

55 KAPLAN, M. H.: Autoimmunity to heart and its relation to heart disease. Prog. Allergy 13: 408 (1969)

56 KAPLAN, M. H.: Cross reaction of group A streptococcus and heart tissue. Varying serologic specifity of cross reactive antisera and relation to carrier hapten specifity. Transplant. Proc. 1: 976 (1969)

57 KISSMEYER-NIELSEN, F., OLSON, S., PETERSON, V. P., and FJELDBORG, O.: Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with preexisting humoral antibodies against donor cells. Lancet 2, 662 (1966)

58 KÖSSLING, F. K., und MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, K. H.: Zur Induktion einer aktiven chronischen Hepatitis durch heterologe lösliche Leberproteine. Virch. Arch. Abt. A. Path. Anat. 245: 365 (1968)

59 KRAMER, K., THURAU, K., und DEETJEN, P.: Hämodynamik des Nierenmarks. Pflügers Arch. 270: 251 (1960)

60	KRAMER, K., und DEETJEN, P.:	Beziehungen des O_2-Verbrauchs der Niere zur Durchblutung und Glomerulusfiltrat bei Änderungen des arteriellen Druckes. Pflügers Arch. 271: 782 (1960)
61	LANCE, E.M., MEDAWAR, P.B.:	Survival of skin heterografts under treatment with anti lymphcytes serum. Lancet I, 1174 (1968)
62	LAND, W.:	Möglichkeiten und Grenzen der xenogenen Organtransplantation. Der Chirurg 42: 172 (1971)
63	LAND, W., SCHILLING, A., ALDENHOFF, J., LAMERZ, R., PIELSTICKER, K., MENDLER, N., und BRENDEL, W.:	In-vitro studies on the mechanism of hyperacute xenograft rejection. Transplant. Proc. 3: 888 (1971)
64	LAND, W., HAMMER, C., FIEDLER, L., und BRENDEL, W.:	Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammesverwandten Spezies-Systemen. Im Druck.
65	LAY, H.W., and NUSSENZWEIG, V.:	Receptors for complement on leucocytes. J. expt. Med. 128: 991 (1968)
66	LEONARD, C.D., and CUTLER, R.E.:	Urinary ß-Glucuronidase in renal homotransplantation. Transplant. 10: 196 (1970)
67	LEVINE, P.H., MERRILL, D.A., KOHLER, P.F., and CLAMAN, H.N.:	Changes in serum immunoglobulin and complement levels following renal homotransplantation. Transplant. 10: 141 (1970)
68	LEWIS, D.H., BERGENTZ, S., BRUNIUS, U., and GELIN, L.:	Blood flow in kidney transplants. Ann. Surg. 168: 803 (1968)
69	LINDQUIST, R.R., GUTTMANN, R.D., and MERRILL, J.P.:	Mechanism of renal allograft rejection. Adv. Surg. 611 (1968) Munksgaard, Copenhagen

70 LINN, B. S., JENSEN, A.J., PARDO, V., DAVIES, D., and FRANKLIN, L.: Relationship between structural and functional changes in rejecting renal xenografts. Transplant. Proc. 3: 527 (1970)

71 LINSCOTT, W.D.: Effect of cell surface antigen density on immunological enhancement. Nature 228: 824 (1970)

72 LOEWENHAUPT, R., and NATHAN, P.: Platelet accumulation observed by electon-microscopie in the early phase of renal allotransplant rejection. Nature 220: 822 (1968)

73 MACDONALD, A., BUSCH, G.J., ALEXANDER, J.L., PHETEPLACE, E.A., MENZOIAN, J., and MURRAY, J.E.: Heparin and aspirin in the treatment of hyperacte rejection of renal allografts in presensitized dogs. Transplant. 9: 1 (1970)

74 MANCINI, G., CARBONARA, A.O., and HEREMANS, J.F.: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry 2: 225 (1965)

75 MARCEAU, J.P., HALLENBECH, G.A., ZOLLMAN, P.E., BUTLER, H.C., and SHORTER, R.G.: A comparison of autoplastic, allogeneic and xenogeneic perfusion of isolated kidneys. J. Surg. Res. 5: 492 (1965)

76 MCGIVEN, A.R., and IRETON, H.J.C.: Natural rabbit antibody against rodent pankreas. Pathology 2: 293 (1970)

77 MCPHAUL, J.J., DIXON, F.J., BRETTSCHNEIDER, L., and STARZL, T.E.: Immunofluorescent examination of biopsies from long term renal allografts. New Engl. J. Med. 282: 412 (1970)

78 MEDAWAR, P.B.: The use of antigenic tissue extracts to weaken the immunological reaction against skin homografts in mice. Transplant. 1: 21 (1963)

79 MEJIA-LAGUNA, J.E.
GARCIA-CORNEJO, M.,
LOPEZ-SORIANO, F., and
BIRO, C.E.:
The role of the 6 component of complement in the rejection of kidney xenografts.
Immunology 19: 767 (1970)

80 MERKEL, F.K.,
BEAVERS, C.D.,
BIER, M.,
MERRIMAN, W.G.,
WILSON, C., and
STARZL, T.E.:
Modification of xenograft response by selective plasmapheresis.
Transplant. Proc. 3: 534 (1971

81 MESSMER, K.
HAMMER, C.,
LAND, W.,
FIEDLER, L.,
KLÖVEKORN, W.P.,
HOLPER, K.,
LOB, G.,
MERZEL, D., and
BRENDEL, W.:
Modification of hyperacute xenogeneic kidney rejection.
Transplant. Proc. 3: 542 (1971)

82 MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, K.H.:
Klinische Untersuchungen zur immunologischen Spezifität des Leberparenchyms.
Arch. klin. Med. 215: 107 (1967)

83 MILGROM, F.,
LITVAK, B.I.,
KANO, K., and
WITEBSKY, E.:
Humoral antibody inrenal homograft.
JAMA 198: 226 (1966)

84 MOBERG, A.W.,
SHONS, A.R.,
GEWURZ, H.,
MOZES, M., and
NAJARIAN, J.S.:
Prolongation of renal xenografts by simultaneous sequestration of preformed antibody, inhibition of complement, coagulation and antiboy-synthesis.
Transplant. Proc. 3: 538 (1971)

85 MOLLISON, P.L.:
The role of complement in antibody-mediated red-cell destruction.
Brit. J. Hematol. 18: 249 (1970)

86 MOZES, M.F.,
GEWURZ, H.,
GUNNARSON, A.,
MOBERG, A.W.,
WESTBERG, G.,
JETZER, T., and
NAJARIAN, J.S.:
Xenograft rejection by dog and man: Isolated kidney perfusion with blood and plasma.
Transplant. Proc. 3: 531 (1971)

87 MÜLLER-EBERHARD, H.J.: Complement.
Ann. rev. Biochem. 38: 389 (1969)

88 NACHMANN, R.L., WEKSLER, B., and FERRIS, B.: Increased vascular permeability produced by human platelet granule cationic extract.
J. clin. Invest. 49: 274 (1970)

89 NAJARIAN, J.S., and FOKER, J.: Interpretation of transplanted kidney morphology.
Transplant. Proc. 1: 1022 (1969)

90 NELSON, R.A.: A new concept of immunosuppression in the hypersensitivity reaction and in transplantation immunity.
Surv. Ophtal. 11: 498 (1966)

91 NEUHOFF, H.: The transplantation of tissues.
New York: Appleton % Co. 1923, S. 260

92 OCKNER, S.A., GUTTMANN, R.D., and LINDQUIST, R.R.: Renal transplantation in the inbred rat.
III. Modification of rejection by active immunisation with bone marrow cells.
Transplant. 9: 11 (1970)

94 OCKNER, S.A., GUTTMANN, R.D., and LINDQUIST, R.R.: Renal transplantation in inbred rats.
XIV. Mechanism of the modified rejection produced by bone marrow cell pretreatement.
Transplant. 9: 39 (1970)

95 O'KANE, H.O., SHORTER, R.G., NAVA, C., and HALLENBECK, G.A.: Heterophil antibodies in the sera of recipients in clinical renal transplantation.
Surgery 66: 682 (1969)

96 OWEN, E.R., SLOME, D., and WATERSTONE, D.J.: Prolongation of rabbit kidney allograft survival by desentisation.
Adv. Transplant. 385 (1968) Munksgaard, Copenhagen

97 OWEN, E.R.: Prolonged survival in heterografted kidneys with transplantation antigen pretreatement.
Nature 219: 970 (1968)

98 PENTINNEN, K. MYLLYÄ, G., MÄKELÄ, O., and VAHERY, A.: Soluble antigen-antibody complexes and platelet aggregation. Acta pathol. microbiol. scand. 77: 309 (1969)

99 PERPER, R.J., NAJARIAN, J.S.: Experimental renal heterotransplantation. I. In widely divergent species. Transplant. 4: 77 (1966)

100 PERPER, R.J., NAJARIAN, J.S.: Experimental renal heterotransplantation. II. Closely related species. Transplant. 4: 700 (1966)

101 PERPER, R.J., NAJARIAN, J.S.: Experimental renal heterotransplantation. III. Passive transfer of transplantation immunity Transplant. 5: 514 (1967)

102 PERPER, R.L., NAJARIAN, J.S.: Localisation and quantitation of transplantation antibodies. J. Immunol. 99: 619 (1967)

103 PERPER, R.L., BOWERSOX, B.E., VAN GORDER, T.J.: Mechanism of prolonged survival of pig renal allografts. Transplant. 11: 505 (1971)

104 PRINCETEAU, M.: Greffe renale. J. Med. Bordeaux 26: 549 (1905)

105 RAAB, W., and DONHOFER, E.: Die Transaminasen Aktivitäten im Rattenharn. Kli. Wo. 45: 1254 (1970)

106 RAPOPORT, F.T., KANO, K., and MILGROM, F.: Heterophile hemagglutinins in human renal allografts. Adv. Transplant. 757 (1967) Munksgaard, Copenhagen

107 REEMTSMA, K., MC CRAKEN, B.H., SCHLEGEL, J.U., PEARL, M.A., DE WITT, C.W., and CREECH, O.: Reversal of early graft rejection after renal heterotransplantation in man. JAMA 187: 692 (1964)

108 REEMTSMA, K., MC CRAKEN, B.H., SCHLEGEL, J.U., PEARL, M.A., PEARCE, C.W., DE WITT, C.W., SMITH, P.E., HEWITT, R.I., FLINNER, R.L., and CREECH, O.:
Renal heterotransplantation in man. Ann. Surg. 160: 384 (1964)

109 ROMEIS, B.:
Mikroskopische Technik. R. Oldenburg, München 1948

110 ROSEN, S.M., TRUNINGER, B.P., KRIEK, H.R., MURRAY, J.E., and MERRILL, J.P.:
Intrarenal distribution of blood flow in the transplanted dog kidney. Effect of denervation and rejection. J. clin. Invest. 46: 1239 (1967)

111 ROSENBERG, J.C., BROERSMA, R.J., BULLEMER, G., MAMMEN, E.F., LENAGHAN, R., and ROSENBERG, B.F.:
Relationship of platelets, blood coagulation and fibrinolysis to hyperacute rejection of renal xenografts. Transplant. 8, 152 (1969)

112 ROSENBERG, J.C., HAWKINS, E., and RECTOR, F.:
Mechanism of immunological injury during antibody mediated hyperacute rejection of renal heterografts. Transplant. 11: 151 (1971)

113 ROTHER, U., BALLENTYNE, D.L., COHEN, C., and ROTHER, K.:
Allograft rejection in C'6 defective rabbits. J. exp. Med. 126: 565 (1967)

114 SCOTT, J., EMANUEL, D., and HADDY, F.:
Effect of potassium on renal vascular resistance and urine flow rate. Am. J. Physiol. 197: 305 (1959)

115 SENNING, A., ANDRES, J., BRONSTEIN, P., NORBERG, B., and ANDERSEN, N.:
Renal function during extracorporal circulation at high and low flow rates. Ann. Surg. 151: 63 (1960)

116 SNYDER, G.B., BALLESTEROS, E., ZARCO, R.M., and LINN, B.S.: Prolongation of renal xenografts by complement suppression. Surg. Forum 17: 478 (1966)

117 SNYDERMAN, R., PHILLIPS, J., and MERGENHAGEN, S.E.: Polymorphnuclear leucocyte chemotactic activity in rabbit serum and guinea pig serum treated with immune complexes. Evidence for C'5a as the major chemotactic factor. Infect. Immunity 1: 521 (1970)

118 STARZL, D.E., MARCHIORO, T.L., PETERS, G.N., KIRKPATRICK, C.H., WILSON, W.E., PORTER, K.A., OGDEN, D.A., HITCHKOCK, C.R., and WADDELL, W.R.: Renal heterotransplantation from baboon to man. Experiences with 6 cases. Transplant. 2: 752 (1964)

119 STASTNY, P.: Bound immunoglobulin and complement in heart allografts undergoing rejection. Transplant. 10: 248 (1970_

120 STUART, F.P., FITCH, F.W., and ROWLEY, D.A.: Specific suppression of allograft rejection treatment with antigen and antibody. Transplant. Proc. 2: 483 (1970)

121 TERASAKI, P.I., THRASHER, D.L., and HAUBER, T.H.: Serotyping for homotransplantation XIII. Immediate kidney rejection and associated preformed antibodies. Adv. Transplant. 226 (1967). Munksgaard, Copenhagen

122 THURAU, K., DEETJEN, P., und KRAMER, K.: Hämodynamik des Nierenmarks. Pflügers Arch. 270: 270 (1960)

123 UNGER, E.: Nierentransplantation. 2. Mitteilung. Berl. Klin. Wschr. 47: 773 (1919)

124/1. WARD, P.A., and ZVAIFLER, N.J.: Complement derived leucotactic factors in inflammatory synovial fluids of humans. J. clin. Invest. 50: 606 (1971)

124/2. WARD, P.A., COCHRANE, C.G., and MÜLLER-EBERHARD, H.J.: The role of serum complement in chemotaxis of leucocytes in vitro. J. exp. Med. 128: 327 (1968)

125 WAY, L.W., MAY, J., and PERPER, J.: Experimental renal heterotransplantation in various species. Fed. Proc. 24: 572 (1965)

126 WILSON, R.E., RIPPEN, A., HAYES, C.R., DAGHER, R.K., and BUSCH, G.J.: Prolonged renal allograft survival associated with antigen pretreatement. Transplant. Proc. 1: 290 (1969)

127 WINN, H.J.: Humoral antibody in allograft reactions. Transplant. Proc. 2: 83 (1970)

128 ZIMMERMAN, B., and FELDMAN, J.D.: Enhancing antibody. J. Immunol. 103: 383 (1969)

129 ZIMMERMAN, C.E., BUSCH, G.J., STUART, F.P., and WILSON, R.E.: Canine renal homograft after pretreatment with subcellular splenic antigens. Surgery 63: 437 (1968)

CURRICULUM VITAE

Name:	Claus, Robert Hammer	
geboren:	11. Mai 1940, in Kirchheim-Teck	
Vater:	Robert Hammer, freier Architekt in Kirchheim-Teck	
Mutter:	Ruth Hammer, geb. Hoyler	
Ausbildung:	1946 - 1950	Grundschule in Kirchheim-Teck
	1950 - 1959	Gymnasium in Kirchheim-Teck
	19. 2. 1959	Abitur
	6. 5. 1959 - 28. 2. 1964	Studium der Tiermedizin an der Universität München
	28. 2. 1964	Staatsexamen der Veterinär-Medizin
	26. 2. 1965	Promotion Dr. med. vet.
	23. 11. 1964	Beginn des Medizinstudiums
		Physikum
	1. 6. 1966 - 30. 4. 1967	Assistent lecturer for biochemistry an der Universität Nairobi/Ost-Afrika
	12. 6. 1969	Staatsexamen der Medizin an der Universität München
	1. 10. 1969 - 31. 12. 1970	Medizinalassistent am Institut für chirurgische Forschung und an der I. Med. Klinik der Universität München
	1. 1. 1971	Wissenschaftlicher Assistent am Institut für chirurgische Forschung